

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Laboratorní diagnostika poruch metabolismu železa

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Simona Pešková**
Osobní číslo: **C18267**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Laboratorní diagnostika poruch metabolismu železa**
Téma práce anglicky: **The Laboratory Diagnostics of Iron Metabolic Diseases**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Na základě informací z literatury uspořádejte základní informace o poruchách metabolismu železa.
- 2) Bliže se zaměřte na laboratorní parametry vyšetřované v souvislosti s poruchami metabolismu železa.
- 3) Věnujte pozornost také metodice stanovení jednotlivých parametrů v lidském biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Laboratorní diagnostika poruch metabolismu železa jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 27.6.2022

Simona Pešková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavle Žákové, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost a cenné rady při zpracování této práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá poruchami metabolismu železa a možnostmi jejich laboratorní diagnostiky. Začátek práce popisuje biologický význam železa, jeho vstřebávání, transport, skladování a regulaci v organismu. Dále se zabývá poruchami metabolismu železa, zejména hemochromatózou a sideropenickou anémií. Následně shrnuje laboratorní parametry vyšetřované v kontextu nedostatku či nadbytku železa v organismu. Závěr práce se věnuje preanalytické fázi vyšetření.

KLÍČOVÁ SLOVA

metabolismus železa, transferin, ferritin, hepcidin, hemochromatóza, sideropenická anémie, laboratorní diagnostika

TITLE

The Laboratory Diagnostics of Iron Metabolic Diseases

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with disorders of iron metabolism and the possibilities of their laboratory diagnostics. The first part describes the biological significance of iron, its absorption, transport, storage and regulation in the body. Furthermore, the thesis deals with iron metabolism disorders, especially haemochromatosis and sideropenic anemia. Finally, the thesis summarizes the laboratory parameters examined in the context of iron deficiency or excess in the body. The conclusion of the thesis deals with the preanalytical stage of the examination.

KEYWORDS

iron metabolism, transferrin, ferritin, hepcidin, haemochromatosis, sideropenic anemia, laboratory diagnostics

OBSAH

ÚVOD.....	12
1. Metabolismus železa.....	13
1.1 Biologický význam a funkce železa v organismu	13
1.2 Příjem, ztráty	13
1.3 Vstřebávání železa.....	14
1.4 Uskladnění železa v organismu	16
1.4.1 Feritin.....	16
1.4.2 Hemosiderin.....	17
1.5 Transport železa v organismu.....	17
1.5.1 Transferin.....	17
1.5.2 Transferinové receptory	18
1.6 Regulace železa v organismu	19
1.6.1 Systém IRP-IRE.....	19
1.6.2 Heparin.....	20
1.6.3 Hypoxie.....	21
2. Poruchy metabolismu železa	23
2.1 Přebytek železa	23
2.1.1 Prvotní hromadění železa.....	23
2.1.1.1 Hemochromatóza	23
2.1.1.2 Klinické projevy hemochromatózy	25
2.1.2 Sekundární hromadění železa	25
2.1.3 Organové důsledky akumulace železa	25
2.2 Nedostatek železa	26
2.2.1 Anémie z nedostatku železa.....	28
2.2.2 Sideroblastická anémie	29
2.3 Léčba	29

3. Diagnostika	31
3.1 Hematologické vyšetření	31
3.1.1 Hemoglobin	31
3.1.2 Hematokrit	33
3.1.3 Počet a velikost erytrocytů.....	34
3.1.4 Střední objem erytrocytu	35
3.1.5 Střední množství hemoglobinu v erytrocytu.....	35
3.1.6 Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu	36
3.1.7 Barvení na železo	36
3.2 Biochemické indikátory.....	36
3.2.1 Stanovení sérového železa	37
3.2.2 Stanovení saturace transferinu	38
3.2.3 Stanovení celkové vazebné kapacity pro železo.....	39
3.2.4 Stanovení sérového feritinu	40
3.2.5 Stanovení rozpustného transferinového receptoru.....	43
3.2.6 Stanovení zinkového protoporfyrinu	44
3.2.7 Stanovení hepcidinu.....	44
4. Preanalytická fáze	46
ZÁVĚR	47
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	49

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Vstřebávání železa (převzato z Lukáš, 2019)	14
Obrázek 2: Divalentní metalový transportér (převzato a upraveno dle Yanatori, Kishi 2019)	15
Obrázek 3: Regulace metabolismu železa systémem IRP-IRE při nedostatku železa v buňkách (převzato a upraveno dle Bouton, Drapier 2003)	20
Obrázek 4: Faktory regulující hepcidin (převzato a upraveno dle Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018)	21
Obrázek 5: Hematokrit (převzato a upraveno dle Skálová 2011).....	33
Obrázek 6: Schéma jednopaprskového atomového absorpčního spektrometru (převzato z Klouda 2003)	37
Obrázek 7: Reakční kroky modifikovaného testu TIBC (převzato a upraveno dle Yamanishi, Iyama, Yamaguchi, et al. 2002, s. 1566)	39
Obrázek 8: Rozložení multiplexních testů v jamce destičky (převzato z Brindle, Stevens, Crudder, et al. 2014)	42
Tabulka 1: Rozdělení hereditární hemochromatózy (upraveno dle Penka, Bulíková, Matýšková 2009)	24
Tabulka 2: Příčiny nedostatku železa v organismu (upraveno dle Luchowska–Kocot 2014)..	26
Tabulka 3: Laboratorní parametry pro hodnocení stavu železa (upraveno dle Elstrott, Khan, Olson, et al. 2020).....	28
Tabulka 4: Hemoglobin (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)	32
Tabulka 5: Hematokrit (OKB a HTO Chrudimská nemocnice).....	34
Tabulka 6: Počet červených krvinek (OKB a HTO Chrudimská nemocnice).....	34
Tabulka 7: Střední objem erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)	35
Tabulka 8: Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)	35
Tabulka 9: Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice).....	36
Tabulka 10: Sérové železo (OKB a HTO Chrudimská nemocnice).....	38
Tabulka 11: Saturace transferinu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)	38
Tabulka 12: Celková vazebná kapacita pro železo (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)....	40
Tabulka 13: Sérový feritin (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)	42
Tabulka 14: Rozpustný transferinový receptor (OKB a HTO Chrudimská nemocnice).....	43

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AGB – α -1-kyselý glykoprotein

CDT – carbohydate-deficient transferin

CRP – C reaktivní protein

DcytB – duodenální cytochrom B

DMT1 – divalent metal transporter 1 (transportér divalentních iontů)

ELISA – enzyme-linked immuno sorbent assay

HCP1 – heme carrier protein 1 (protein přenášející hem)

HIF – hypoxií indukovatelný faktor

HFE – gen regulující železo

IL-6 – interleukin 6

IRE – iron responsive element

IRP – iron regulatory protein

MCH – střední množství hemoglobinu v erytrocytu

MCHC – střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

MCV – střední objem erytrocytu

mRNA – messengerová RNA

SI – sérové železo

SLS – sodium lauryl sulfát

sTfR – solubilní transferinový receptor

TfR1 – transferinový receptor 1

TfR2 – transferinový receptor 2

TIBC – celková vazebná kapacita pro železo

TMB – tetramethylbenzidin

TSAT – saturace transferinu

POCT – point of care (testování v místě péče)

RBR – retinol vázající protein 4

UIBC – nenasycená vazebná kapacita pro železo

ZPP – zinkový protoporfyrin

ÚVOD

Železo je nezbytný prvek pro správné fungování lidského organismu. Jeho hladina v těle musí být přísně regulována na buněčné a systémové úrovni, neboť je ve vyšší koncentraci toxické. Strava obsahuje hemové Fe^{2+} a nehemové Fe^{3+} železo. Vstřebávání železa z potravy se odehrává v duodenu a horní části jejunu, jelikož je prvek vstřebáván pouze ve formě Fe^{2+} , je nehemové železo před absorpcí chemicky redukováno. Značná část železa je v těle navázaná na červené krevní barvivo – hemoglobin. Výborná schopnost lidského těla je v ukládání železa do zásob, hlavní skladovací formou železa je feritin, který umožňuje hbitou mobilizaci v případě jeho potřeby organismem. Z feritinu vzniká hemosiderin, jenž váže a hromadí přebytečné železo. Transport tohoto biogenního kovu v organismu zajišťuje transferin.

Onemocnění hemochromatóza je charakteristické zvýšeným vstřebáváním železa v duodenu. Tato porucha metabolismu železa má genetický původ a dělí se na čtyři druhy. Nejčastější forma je hemochromatóza, kdy se kov hromadí v parenchymálních buňkách. Pacienty s hemochromatózou obvykle trápí bolesti kloubů, únava, pigmentace kůže či defekty nehtů. Sideropenie je patologický stav organismu, kdy tělo strádá z jeho nedostatku. Vzniká při nadměrné potřebě železa organismem, jeho sníženým příjmem nebo nadměrnými ztrátami. Sideropenická anémie je příznakem sníženého příjmu a špatného vstřebávání železa z potravy.

Laboratorní diagnostika poruch metabolismu železa se rozděluje na hematologické a biochemické vyšetření. Hematologické vyšetření zahrnuje zejména stanovení koncentrace hemoglobinu a hematokritu ve vzorku krve. Doprovodnými parametry jsou velikost a počet červených krvinek, střední objem a střední množství hemoglobinu v erytrocytu. Biochemické stanovení se opírá o detekci koncentrace železa v séru a sérového feritinu. Nedílnou součástí vyšetření je i hodnota saturace transferinu, celkové vazebné kapacity pro železo a solubilního transferinového receptoru.

Cílem práce je charakterizovat poruchy metabolismu železa, popsat možnosti laboratorního stanovení těchto onemocnění a zaměřit se také na novější laboratorní parametry, vyšetřované ve spojení s poruchami metabolismu železa.

1. Metabolismus železa

1.1 Biologický význam a funkce železa v organismu

Železo je biologicky nepostradatelný kov, který je schopen snadno poutat a darovat elektron. Vyskytuje se nejen v buňkách savců, ale i v buňkách rostlin a jednobuněčných organismů. Pro jeho případné toxické působení musí být jeho hladina v organismu striktně regulována. Železo se v lidském organismu nachází ze všech prvků nezbytných pro život v největším zastoupení. U žen 35 mg/kg a u mužů dokonce 45 mg/kg (Camaschella, Nai, Silvestri 2020, s. 260; Novotný 2007, s. 390).

Železo je nepostradatelné pro správné fungování buněk v lidském organismu. Tento kov se vyskytuje v plazmatickém transferinu, myoglobinu a v tkáňových enzymech, avšak nejvíce železa obsahuje hemoglobin červených krvinek (Wang, Pantopoulos 2011 s. 365; Horák 2010, s. 9).

Hemoglobin zastává v organismu více funkcí. Důležitou roli sehraává při transportu kyslíku v krvi z plic do tkání, neboť dokáže reverzibilně navázat kyslík. Hemoglobin také přispívá k transportu oxidu uhličitého do plic, ovlivňuje metabolismus oxidu dusného a účastní se regulace pH. Obdobnou molekulou je myoglobin, který váže kyslík a objevuje se v kosterní a srdeční svalovině. Myoglobin, na rozdíl od hemoglobinu, je schopen navázat pouze jednu molekulu kyslíku (Ahmed, Ghatge, Safo 2020, s. 346; Ganong 2005, s. 674).

Dále je tento stopový prvek nezbytný jako součást cytochromů, které se podílí na přenosu elektronů v dýchacím řetězci. Jelikož je železo přechodný a velmi reaktivní prvek, jeho nežádoucím účinkem je podíl v radikálových reakcích, kdy vznikají reaktivní formy kyslíku (Horák 2010, s. 19).

1.2 Příjem, ztráty

Zdroje železa pro lidský organismus jsou exogenní (prostřednictvím potravy) a endogenní (Matouš 2010, s. 243). Denně je potravou získáno 15-20 mg železa. Z tohoto množství přijatého železa se vstřebá pouze malá část podle současné potřeby organismu. Tělo dospělého muže a ženy před menopauzou vstřebá 1-1,5 mg železa za den. Ještě více železa vstřebá organismus těhotné ženy a rostoucího dítěte (Kittnar 2020, s. 321).

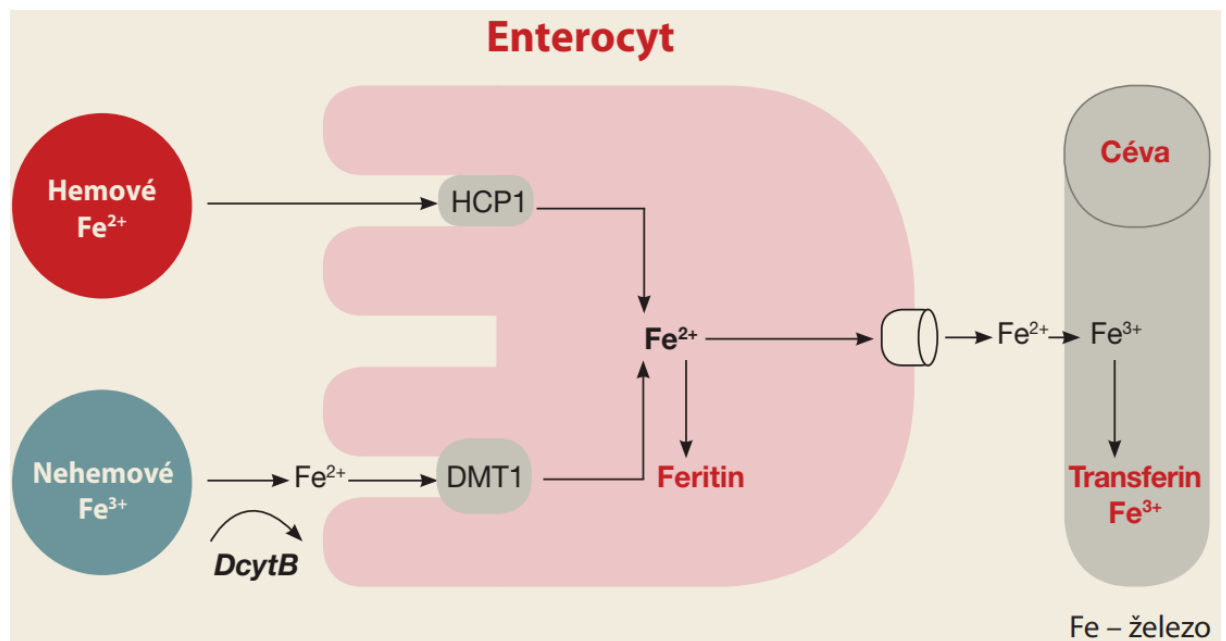
Potravou je přijímáno hemové železo Fe^{2+} a nehemové železo Fe^{3+} . Hemová forma Fe^{2+} je obsažena v živočišné stravě. Jelikož má tato forma snadnější mechanismus vstřebávání než nehemová forma, je pro organismus lépe využitelná. Hůře stravitelná forma železa, jímž je Fe^{3+} ,

se vyskytuje v rostlinné stravě (Matouš 2010, s. 244–245). Zdrojem železa v živočišné stravě je červené maso, vnitřnosti; v rostlinné stravě zejména luštěniny, sója a brambory (Žourek, Lacigová, Krčma, et al. 2007, s. 101).

Fyziologická malá denní ztráta železa v organismu (0,5–1,5 mg) je způsobena úbytkem tělesných tekutin (sliny, slzy, u žen menstruační krev, gravidita) a odlupováním epiteliálních buněk (kůže, sliznic, močových cest) (Slíva 2013, s. 356; Sedláčková, Racek 2009, s. 19).

1.3 Vstřebávání železa

Hlavní lokalitou vstřebávání železa je duodenum, kde probíhá také redukce Fe^{3+} na Fe^{2+} , apikální vychytávání a intracelulární ukládání železa či transcelulární transport, jak je popsáno na obrázku 1 (Montoro-Huguert, Santolaria-Piedrafita, Cañamares-Orbis, et al. 2021). Kvantita absorpce železa je závislá na ztrátách železa z organismu. Jelikož lidské tělo není schopno vyloučit nadbytečné množství železa v těle, je důležitá přesná regulace vstřebávání toho prvku, aby nebyl železa v organismu nadbytek nebo naopak nedostatek (Horák 2010, s. 23).

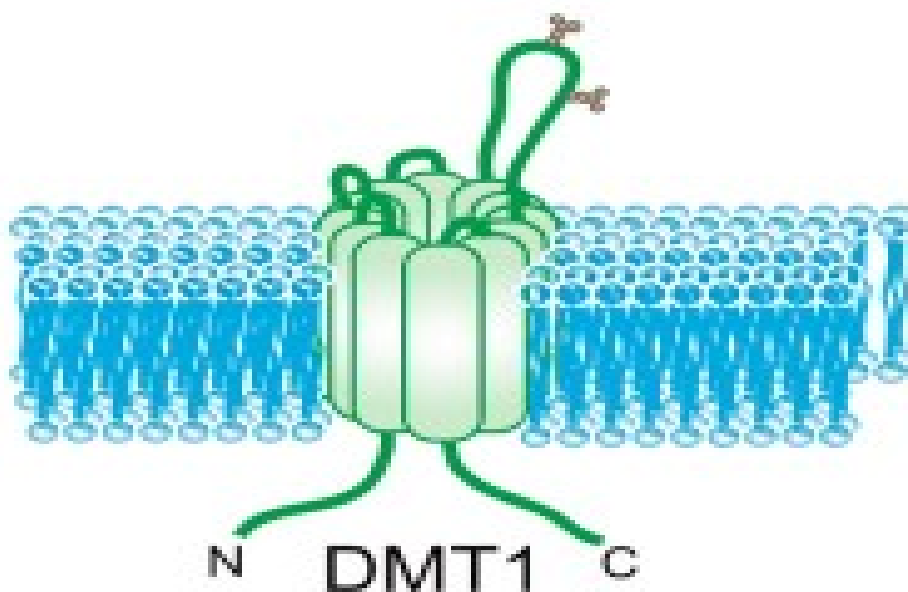


Obrázek 1: Vstřebávání železa (převzato z Lukáš, 2019)

DcytB – duodenální cytochrom B; HCP1 – protein přenášející hem; DMT1 – divalentní kovový transportér

Majoritně lidský organismus z potravy přijímá železo ve formě Fe^{3+} , tato oxidovaná forma Fe^{3+} je nejprve redukována vlivem kyselého prostředí v žaludku. Další redukce Fe^{3+} na Fe^{2+} je dosaženo duodenálním cytochromem B (DcytB) za účasti kyseliny askorbové nebo cysteinu či histidinu jako redukčních činidel. Následuje vstřebání železa do enterocytu pomocí transportéru pro divalentní ionty kovů. Transportér divalentních iontů DMT1 je znázorněn na obrázku 2.

DMT1 nemá specifitu pouze k železu, proto kovy jako jsou kobalt, olovo, mangan nebo zinek v nadbytku nepříznivě působí na proces vstřebávání železa, jelikož se železem soutěží o vazebné místo na DMT1 (Sedláčková, Racek 2009, s. 19; Slíva 2013, s. 355; Žourek, Lacigová, Krčma, et al. 2007, s. 102). DMT1 kódován SLC11A2 genem se strukturně řadí mezi proteiny, jež prostupují skrz membránu. Transportér DMT1 obsahuje 12 transmembránových domén, jehož C- a N- konce se vyskytují v cytoplazmě buňky (Yanatori, Kishi 2019, s. 55).



Obrázek 2: Divalentní metalový transportér (převzato a upraveno dle Yanatori, Kishi 2019)

Mechanismus resorpce hemového železa je účinnější od vstřebávání nehemového, neboť není závislý na pH a tím je proces účinnější. Maso a krev jsou nejlepšími a nejdůležitějšími přirozenými zdroji železa. Proto lidé, kteří mají ve výživě nedostatek masa, mohou trpět chorobami z těžkého deficitu železa (Matouš 2010, s. 246).

Volný hem, který se uvolní z hemoproteinů masité stravy je transportován přes membránu kartáčového lemu enterocytu do cytoplazmy pomocí transportního proteinu HCP1 (heme carrier protein 1). V cytoplazmě je hem degradován vlivem hemoxygenasy 1 na oxid uhelnatý, Fe^{2+} a biliverdin, který je dále redukován na bilirubin. Uvolněné ionty Fe^{2+} organismus využije podle vlastní potřeby. Železo ve formě Fe^{2+} se do krevního řečiště exportuje ferroportinem. Dále se tato redukovaná forma železa může v cytoplazmě ukládat ve formě feritinu nebo do labilního intracelulárního poolu (Matouš 2010, s. 246–247; Horák 2010, s. 29).

Na proces vstřebávání železa mohou mít vliv inhibitory a aktivátory. Kyselina fytová vyskytující se v celozrnných obilovinách a semenech luštěnin negativně ovlivňuje vstřebávání železa. Úkolem inhibitoru je navázat železo v gastrointestinálním traktu a zabránit tak vstřebání

tohoto kovu. Úpravou obilovin a luštěnin jako je jejich namletí, klíčení a fermentace se značně zdokonalí vstřebávání. Inhibiční látky pro vstřebávání železa se vyskytují také v čaji, kávě a lilku. Nepříznivě absorpci železa ovlivňuje chirurgické odstranění žaludku, duodenální bypass a ostatní patologické stavy, jako jsou infekce *Helicobacter pylori*, celiakie a atrofická gastritida (Cappellini, Musallam, Taher 2020, s. 154). Záporné působení inhibitorů ve značné míře anulují kyselina askorbová. Vitamín C podporuje přeměnu formy železa z Fe^{3+} na Fe^{2+} za přítomnosti nízkého pH. Ačkoli je kyselina askorbová běžně obsažená v ovoci a zelenině, zpracováním, tepelnou úpravou a skladováním potravin se vitamín C vytrácí (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1004–1005).

1.4 Uskladnění železa v organismu

Železo je v buňkách uskladněno ve dvou podobách. V cytosolu ve formě feritinu a po jeho rozpadu ve formě hemosiderinu vyskytujícího se v lysozomech (Montoro-Huguert, Santolaria-Piedrafita, Cañamares-Orbis, et al. 2021).

1.4.1 Feritin

Feritin je hlavní zásobní formou železa v lidském organismu, nacházející se hlavně v játrech, slezině a kostní dřeni (Ganong 2005, s. 483). Feritin je určený ke skladování železa, které je rychle mobilizováno, zejména pro tvorbu hemoglobinu. Dále funguje jako ochrana buněk před toxickým vlivem železa. Tento sférický protein nalézáme u všech živých organismů. U savců se rozlišují dva typy feritinu – cytoplazmatický a mitochondriální (Koolman, Röhm 2012, s. 388; Mahroum, Alghory, Kiyak, et al. 2022).

Cytoplazmatický feritin je tvořený 24 podjednotkami dvou druhů – těžké H a lehké L podjednotky, vytvářející útvar apoferitinu s vnitřním dutým prostorem. Apoferitin je molekula feritinu bez navázaného železa. Póry, které se nacházejí v plášti proteinu, umožňují vstup železa do středu molekuly, kde se ukládá ve formě ferihydroxidofosfátu. Molekula feritinu přijímá ionty Fe^{2+} , jež je po oxidaci ve formě Fe^{3+} schopna uskladnit. Množství uloženého železa v každé molekule feritinu činí až 4 500 atomů Fe^{3+} (Matouš 2010, s. 247–248; Mahroum, Alghory, Kiyak, et al. 2022).

Podle typu tkáně se liší poměr těžkých a lehkých podjednotek. V játrech a slezině, kde dochází ke skladování železa, převažují podjednotky L. Naopak v srdci a erytrocytech se nachází více podjednotek H, zde je jejich hlavní rolí odstraňovat toxické železo. Na poměr jednotek ve tkáni mají vliv fyziologické, ale i patologické podmínky, mezi ně se řadí zánět, infekce a maligní změny (Matouš 2010, s. 248; Levi, Yewdall, Harrison, et al. 1992, s. 595–596).

V krevním séru se nachází sérový feritin, jde o L-feritin s nevelkým množstvím železa. Sérový feritin zrcadlí zásoby železa v těle. Pro laboratorní diagnostiku má velký význam v rozpoznání zánětu, anémie a maligních nádorů, neboť zánětlivé cytokiny podporují uvolňování L-feritinu z jater do krevního řečiště (Matouš 2010, s. 248; Mahroum, Alghory, Kiyak, et al. 2022).

Druhým typem feritinu je mitochondriální feritin, který má velmi vysokou homologii s H řetězcem cytoplazmatického feritinu. Mitochondriální feritin je exprimován zejména tkáněmi s vydatnou potřebou kyslíku – ledviny, mozek, varlata a srdce (Wang, Cui, Ren, et al. 2021; Wang, Wang, Dai, et al. 2017). Tvorba mitochondriálního feritinu začíná v cytoplazmě, dále se přenáší do mitochondrií, v nichž je dokončena syntéza mitochondriálního feritinu. Oproti feritinu cytoplazmatickému neslouží patrně mitochondriální feritin jako zásobárna železa pro tvorbu hemu, naopak k sekvestraci železa, které by mohlo být škodlivé pro organismus. Další úlohou mitochondriálního feritinu v organismu je ochrana buňky před reaktivními formami kyslíku (Matouš 2010, s. 248; Mahroum, Alghory, Kiyak, et al. 2022).

1.4.2 Hemosiderin

Další zásobní formou železa v organismu je hemosiderin, který vzniká po rozpadu feritinu. Hemosiderin obsahuje kvantitativně více železa než feritin, ale kvůli špatné rozpustnosti ve vodě je obtížně mobilizováno. Za patologických stavů nebo při neřízeném užívání preparátů železa se hemosiderin může ukládat do některých tkání a orgánů, zejména jater a myokardu (Sedláčková, Racek 2009, s. 18; Matouš 2010, s. 248).

1.5 Transport železa v organismu

1.5.1 Transferin

Transferin je plazmatický transportér železa s dvěma vazebnými místy pro železo, z nichž každé může velmi pevně vázat jeden iont Fe^{3+} . Molekula transferinu, která neobsahuje navázané železo, se nazývá apotransferin a tvoří se především v játrech. Avšak vyjma železa může transferin vázat i ionty manganu, chromu, mědi a zinku. Za fyziologických podmínek je transferin nasycen železem z jedné třetiny jeho celkové kapacity (Ledvina, Stoklasová, Cerman 2009, s. 338; Rajdl, Dastych, Průša, et al. 2014, s. 80–81).

Úlohou tohoto transportéru je navázání železa se záměrem dopravit ho do prostoru, kde bude využito či uskladněno. Cílovými buňkami pro vstup transferinu s navázaným železem jsou zejména erytroidní buňky, dále též imunitní a jaterní buňky. Do imunitních a jaterních buněk, stejně jako do dalších buněk na jejichž membráně se transferinové receptory nacházejí,

prostoupí transferin procesem receptorem zprostředkované endocytózy (Montoro-Huguert, Santolaria-Piedrafita, Cañamares-Orbis, et al. 2021).

Přestože je železo vstřebáváno v redukované formě Fe^{2+} , na transferin se váže pouze v oxidovaném stavu Fe^{3+} . Zde hraje důležitou roli ceruloplazmin, který svou oxidázovou aktivitou převede železo do formy Fe^{3+} , vhodné k navázání na transferin. Oxidace železa se uskuteční ještě před vazbou na apotransferin (Ahmed 2011, s. 522–523).

Tento hlavní protein transportující železo se skládá z oligosacharidových řetězců s kyselinou sialovou. Toho se využívá v diagnostice alkoholismu a ke sledování abstinence alkoholu u pacientů, jelikož alkoholismus zapříčiňuje snížení sacharidového obsahu transferinu, vzniká tak transferin bezsacharidový CDT (carbohydrate-deficient transferrin). CDT slouží jako laboratorní marker abstinence alkoholu, je nezbytné ho však stanovit z krve do 4 týdnů, než z krve zmizí (Matouš 2010, s. 251).

1.5.2 Transferinové receptory

Transferinové receptory (TfR) se nacházejí na membráně všech buněk, výjimkou jsou zralé erytrocyty. TfR jsou rozpoznávány transferinem s navázaným železem. Mají nepostradatelnou úlohu při vstupu železa do buněk za pomoci receptorem zprostředkované endocytózy. Rozlišují se dva druhy transferinových receptorů – transferinový receptor 1 (TfR1) a transferinový receptor 2 (TfR2) (Krawiec, Pac-Kozuchowska 2019, s. 352; Matouš 2010, s. 250).

Strukturně je TfR1 glykoprotein typu II s dvěma stejnými monomerními složkami. Každá podjednotka s molekulovou hmotností 95 kDa poutá dva ionty Fe^{3+} vázané na transferin. Spojení obou podjednotek zajišťují disulfidové můstky. TfR1 má mimo úlohy přenosu transferinu s navázaným železem přes buněčnou membránu také úděl při navázání na prekurzory enterocytů. TfR1 poutaný na prekurzory enterocytů reguluje rovnováhu železa tím, že kontroluje množství železa v organismu a ovlivňuje jeho vstřebávání z potravy. Existují tři typy domén TfR1 – cytoplazmatická, transmembránová a extracelulární doména (Matouš 2010, s. 251; Šimek 2005, s. 345).

Do séra se může uvolňovat solubilní (rozpuštěný) TfR (sTfR), což je monomerní forma TfR1. Rozpuštěná složka transferinového receptoru vzniká po odnětí extracelulárních domén z transferinového receptoru 1. Solubilní transferinový receptor se laboratorně detekuje v séru ke zjištění spotřeby železa buňkami a časového procesu erythropoezy. Poměr sérového transferinového receptoru je nepřímo spjat s celkovou kvantitou TfR (Matouš 2010, s. 251).

Transferinový receptor 2 se nachází převážně na plazmatické membráně hepatocytů, kde je menšinový výskyt transferinového receptoru 1. Mutace TfR2 přispívá ke vzniku vzácnějšího druhu hemochromatózy 3. typu (Šimek 2005, s. 345). V jaterní buňce se TfR2 účastní ovládní tvorby hepcidinu, podrobněji bude vysvětleno dále. TfR2, jenž má menší afinitu k transferinu než TfR1, se v organismu nachází ve dvou variantách – v podobě transmembránového TfR2- α majícího dvě domény a intracelulárního TfR2- β (Matouš 2010, s. 252).

1.6 Regulace železa v organismu

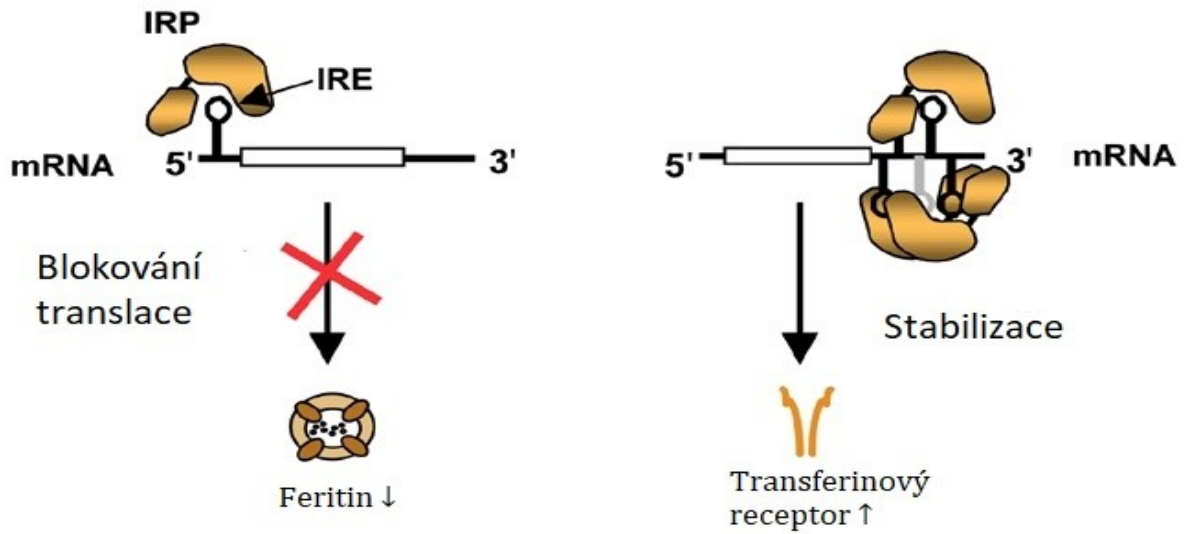
Regulace metabolismu železa v organismu je řízena na buněčné a systémové úrovni. Úprava zásobování železa se uplatňuje zejména v situacích, kdy má buňka nouzi o železo nebo je železa v buňce nadbytek. Tyto neadekvátní situace organismus reguluje přísunem železa do buňky nebo omezením jeho dodání (Anderson, Frazer 2017, s. 1562).

1.6.1 Systém IRP-IRE

IRE (iron responsive element) je vlásenková struktura vyskytující se v obou zakončeních nepřekládané oblasti messengerové RNA. Netranslatované úseky (UTR) mRNA se nachází na 3' a 5' konci (Zhou, Tan 2017). IRP (iron regulatory protein) je ve velké míře rozšířen v hippocampu, striatu a periferních orgánech. Rozeznáváme dvě formy IRP – IRP 1 a IRP 2. Regulační protein železa IRP 1 se v buňkách vyskytuje více než IRP 2. IRP 1 se vazbou s IRE podílí na regulování železa v buňce, zároveň IRP 1 může působit jako cytoplazmatický enzym akonitáza (Yao, Fu, Jia, et al. 2022). V roli cytosolické akonitázy se IRP 1 uplatňuje v okamžiku nadměrné míry železa uvnitř buňky. V opačném případě, tedy ve stavu snížené hladiny železa v buňce, IRP 1 zastává roli regulačního proteinu železa (Yao, Cui, Zhang, et al. 2021). Činnosti IRP 1 jsou různorodé, jsou formovány na základě skládání nebo rozpadu Fe/S klastru. V závislosti na hladině železa je klastr vratně transformován buď na protein schopný vázat IRE nebo na enzym akonitázu. I přestože si jsou obě formy IRP podobné, u IRP 2 je absence akonitázové aktivity.

Celý systém IRP/IRE kromě buněčné regulace železa je v kontextu také s jeho metabolismem, resorpcí či rozšiřováním železa v organismu (Yao, Fu, Jia, et al. 2022). Snížené množství železa v buňkách navodí vazbu IRP na IRE v molekule mRNA (obrázek 3). Výskyt komplexu IRP-IRE na 3' konci UTR části mRNA přispívá k větší stabilitě nukleové kyseliny a tudíž podněcuje translaci. Tyto kroky vedou ke zvyšování produkce transferinového receptoru a DMT1, čímž nastává kompenzace nedostatku cytoplazmatického železa. Spojení IRP s IRE v lokalizaci 5' konce mRNA brání translaci. Nenastane tudíž syntéza feritinu a ferroportinu. Buňka má

nedostatek železa, proto není v možnostech ferroportinu čerpat železo z buňky a feritin nemá jaké železo skladovat (Huang, Ong, Go, et al. 2005, s. 376–377; Sedláčková, Racek 2009, s. 21).



Obrázek 3: Regulace metabolismu železa systémem IRP-IRE při nedostatku železa v buňkách (převzato a upraveno dle Bouton, Drapier 2003)

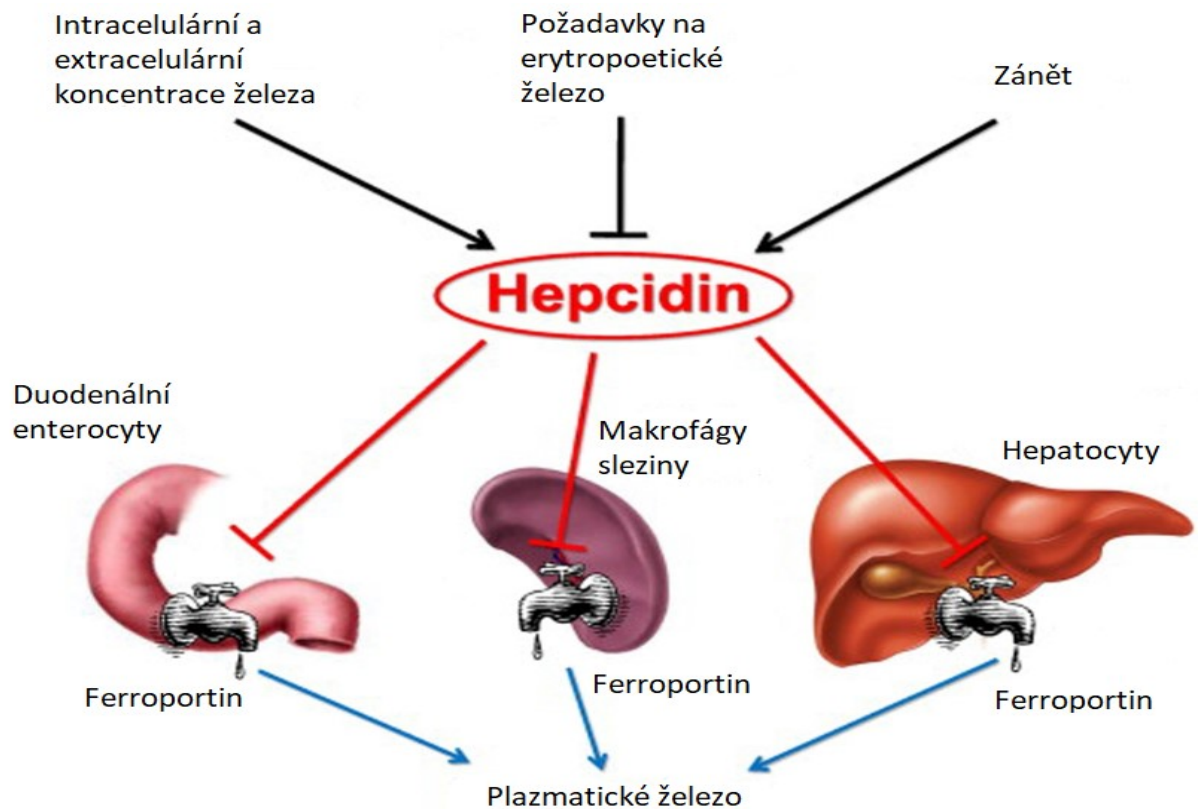
Když je železa v buňce nadbytek, IRP se naváže na IRE, to vede na 5' konci k translaci a tvorbě feritinu a na 3' konci k destabilizaci mRNA s její následnou degradací znemožňující produkci transferinového receptoru. IRP 1 je konvertován na akonitázu, ta železo váže a přitom mění svou konformaci, nemůže se tudíž vázat k IRE a IRP 2 se degraduje, neboť nemá akonitázovou aktivitu, jak už bylo zmíněno (Anderson, Shen, Eisenstein, et al. 2012).

1.6.2 Hepcidin

Hepcidin je peptid obsahující 25 aminokyselin spojených čtyřmi disulfidickými můstky. Je významným regulátorem systémové homeostázy železa. Syntéza hepcidinu probíhá v játrech. Hlavním úkolem tohoto jaterního peptidu, jenž má v lidském organismu povahu hormonu, je regulovat transport železa do plazmy prostřednictvím navázání na ferroportin. Vlivem hepcidinu dojde k internalizaci a degradaci ferroportinu v makrofázích, ale také minoritně v enterocytech (Camaschella, Nai, Silvestri 2020, s. 264; Sedláčková, Racek 2009, s. 22). Ferroportin je vylučován kromě enterocytů tenkého střeva, také makrofágy sleziny a hepatocyty. Jiný mechanismus usměrňování hepcidinu prezentuje erythropoetická aktivita. Nastane-li zvýšení erythropoetické aktivity, poklesne tvorba hepcidinu. Faktory regulující syntézu hepcidinu jsou znázorněny na obrázku 4 (Bělohávková 2011, s. 127).

Jsou-li zásoby železa v organismu vysoké, dojde k produkci hepcidinu a ten navodí internalizaci ferroportinu, čímž se zabrání vstřebání železa do organismu. Opačná situace, tedy

malé množství zásob železa v těle, přinese výsledek v podobě utlumení syntézy hepcidinu. Ferroportin se ukáže na membráně enterocytů a podpoří transport železa z buněk střevní sliznice do plazmy, kde následuje vazba na transferin. Stimulem k produkci hepcidinu je infekce, neboť dochází k tvorbě prozánětlivého cytokinu IL–6 (interleukin-6). IL–6 následně navodí tvorbu mRNA pro hepcidin, jehož působení zapříčiní sníženou hladinu železa v krvi. Hypoxie, zmenšená zásoba železa a anémie potlačují produkci hepcidinu v játrech (Sedláčková, Racek 2009, s. 22).



Obrázek 4: Faktory regulující hepcidin (převzato a upraveno dle Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018)

1.6.3 Hypoxie

Pro správné fungování buněk lidského těla je kyslík nezbytný, proto je zapotřebí regulovat a kompenzovat nedostatek kyslíku v těle. Na snížené množství kyslíku v organismu reaguje hypoxií indukovatelný faktor (HIF). Heterodimer HIF složený v α a β podjednotky, zahrnuje HIF–1, HIF–2 a HIF–3 (Renassia, Peyssonnaud 2019, s. 126). Při hypoxii a krevní ztrátě se lidský organismus snaží vyrovnávat množství kyslíku zesílením erythropoézy. V návaznosti na zvýšení erythropoézy je ledvinami vylučován erythropoetin, jehož hodnota se v séru liší podle míry hypoxie. HIF–2, který je exprimován zejména střevními buňkami, kromě regulace erythropoetinu zvyšuje mobilizaci železa (Li, Huang, Wang 2020; Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1008). HIF–1 je nejvíce prostudovaný transkripční faktor, usměrňující expresi genů

pro přizpůsobení buněk na hypoxii. Hypoxie snižuje produkci hepcidinu. HIF-1 se zapojuje i do procesu tvorby nových krevních kapilár, apoptózy a glykolytického metabolismu (Renassia, Peyssonnaud 2019, s. 126).

2. Poruchy metabolismu železa

Vlivem schopnosti železa vázat i uvolňovat elektron mohou v živém organismu vzniknout volné radikály, které jsou toxické. Proto musí být množství železa v těle striktně regulováno (Iwai 2019, s. 64).

2.1 Přebytek železa

2.1.1 Prvotní hromadění železa

2.1.1.1 Hemochromatóza

Hemochromatóza je dědičné onemocnění vyznačující se nadměrným vstřebáváním železa ve střevě. Příčinou neadekvátně zvýšené střevní absorpce železa je často úbytek exprese proteinu hepcidinu, jenž je důležitý regulační protein železa. Nebezpečím vzestupu absorpce železa je jeho ukládání v orgánech s následným poškozením organismu. Genetická hemochromatóza se rozděluje na čtyři typy – klasická neboli HFE hemochromatóza, juvenilní hemochromatóza, hemochromatóza 3. a 4. typu (Radford–Smith, Powell, Powell 2018, s. 509; Staňka, Maceček, Konvička 2017, s. 40).

Mezi nejběžnější formu hemochromatózy se řadí HFE hemochromatóza, zapříčiněná homozygotními mutacemi v HFE genu. HFE gen se významně podílí na řízení akumulace železa ve tkáni. Protein, který je kódován HFE genem se váže na transferinový receptor a tím snižuje vazebnou intenzitu receptoru pro transferin. Non-HFE formy hemochromatózy jsou méně časté. Nadměrné vstřebávání železa v duodenu způsobí jeho hromadění v krvi, což se projevuje vyšší saturací transferinu. Přebytečné množství buněčného železa u HFE a non-HFE formy hemochromatózy, které je způsobeno zvýšenou koncentrací plazmatického železa, může přispívat k hromadění železa v buňkách obsahujících parenchym. Zvýšené sérové železo poukazuje na jeho hromadění v parenchymálních buňkách. Železo se akumuluje zejména v játrech, srdci a slinivce břišní (Horák 2010, s. 43; Brissot, Pietrangelo, Adams, et al. 2018). Pacient s neléčenou HFE hemochromatózou může trpět bolestí břicha, ztrátou hmotnosti, slabostí, diabetem mellitem a letargií. Detekování této formy hemochromatózy se zakládá na molekulárně genetickém vyšetření (Barton, Edwards, Adam, et al. 2018).

Mezi další formu hemochromatózy také s autozomálně recesivní dědičností patří juvenilní hemochromatóza. Juvenilní hemochromatóza, též nazývaná jako hemochromatóza 2 typu, se rozděluje na typ 2A, který je úzce spjat s mutací v genu pro hemojuvelin. Hemojuvelin je protein působící na expresi hepcidinu. Proto organismus při onemocnění v souvislosti s hemojuvelinem, produkuje omezené množství hepcidinu a dochází k akumulaci železa v těle.

Typ 2B je podnícený mutací v genu pro hepcidin (Anderson, Bardou-Jacquet 2021; Horák 2010, s. 44). I přestože jsou příznaky juvenilní hemochromatózy podobné jako u HFE formy, juvenilní hemochromatóza je mnohem závažnější. Může dojít k masivnímu přetížení železem již v dětském věku pacienta. Velmi podstatnou hrozbou je poškození srdce, které se neprodleně zhoršuje. Epikard je počátečním místem akumulace železa, která pokračuje směrem k endokardu (Hamdi-Rozé, Ben Ali, Ropert, et al. 2019, s. 30; Joshi, Patel, Shreya, et al. 2021). Mezi další velmi časté příznaky se řadí hypogonadotropní hypogonadismus, intolerance glukózy a jaterní cirhóza. Diagnostika juvenilní hemochromatózy je založena na laboratorním stanovení přetížení železem, molekulárně genetickém vyšetření či jaterní biopsii (Piperno, Bertola, Bentivegna 2020).

Posledním typem hemochromatózy s autozomálně recesivní dědičností je typ 3, jehož příznaky se projevují většinou před dosažením 30. roku života jedince. Příčina tohoto vzácnějšího typu onemocnění spočívá v mutaci genu TfR2 (Radford–Smith, Powell, Powell 2018, s. 510).

Hemochromatóza typu 4 má jako jediná autozomálně dominantní předlohu. Závěrečný typ hemochromatózy je vyvolán mutací v genu SLC40A1. Jelikož gen SLC40A1 kóduje ferroportin, onemocnění se rovněž nazývá ferroportinová choroba. Úlohou ferroportinu je exportovat železo z enterocytů do plazmy. Následkem špatného fungování ferroportinu dochází k hromadění železa v těle, což způsobuje jaterní cirhózu a arytmie. Shrnutí typů hemochromatózy je v tabulce 1 (Horák 2010, s. 57, Radford–Smith, Powell, Powell 2018, s. 510–511).

Tabulka 1: Rozdělení hereditární hemochromatózy (upraveno dle Penka, Bulíková, Matýšková 2009)

Hereditární hemochromatóza	Dědičnost	Mutovaný protein
Typ 1	autozomálně recesivní	HFE protein
Typ 2A - juvenilní	autozomálně recesivní	hemojuvelin
Typ 2B - juvenilní		hepcidin
Typ 3	autozomálně recesivní	transferinový receptor 2. typu
Typ 4 – ferroportinová choroba	autozomálně dominantní	ferroportin

2.1.1.2 Klinické projevy hemochromatózy

Hemochromatóza se projevuje širokým spektrem symptomů, což značně komplikuje diagnostiku. Na počátku nemoci je typická únava a bolesti kloubů, zejména u článků prstů na rukách. Příznaky se nejčastěji objevují ve čtvrté až páté dekádě života jedince. U mužů se příznaky objeví dříve, u žen se zpravidla obtíže projeví až po menopauze. Dermatologické příznaky zahrnují zejména zvýšenou pigmentaci až ztmavnutí kůže, dále pak suchost kůže a poškození nehtů. Bílé nehty a koilonychie jsou charakteristickými defekty nehtů u pacientů s hemochromatózou. Koilonychie též lžičkovité nehty jsou mimořádně tenké a ohýbají se k vnitřní straně (Brissot, Pietrangelo, Adams, et al. 2018; Radford-Smith, Powell, Powell 2017, s. 511–512).

Dlouholeté těžké přetížení organismu železem vede k progresivnímu poškození jater s cirhózou a hepatocelulárním karcinomem (Radford-Smith, Powell, Powell 2017, s. 511).

2.1.2 Sekundární hromadění železa

Druhotná akumulace železa v organismu se nazývá hemosideróza. Jedná se o tkáňovou akumulaci železa s vymezenými příčinami. (Horák 2010, s. 67; Hůlek, Urbánek, Aiglová, et al. 2018, s. 135). Zásadními příčinami sekundární akumulace železa jsou opakované transfuze, hemolýza, zvýšený přísun železa a vitamínu C, nadměrné užívání alkoholu a onemocnění jater. Občas může být těžší odlišení hemochromatózy od sekundární hemosiderózy, jelikož u obou chorob se může vyskytovat mutace genu HFE (Ehrmann, Schneiderka, Ehrmann 2006, s. 54; Hůlek, Urbánek, Aiglová, et al. 2018, s. 135).

2.1.3 Orgánové důsledky akumulace železa

I když je železo nepostradatelným prvkem pro život jedince, musí být jeho hladina striktně regulována na systémové a tkáňové úrovni. Pokud není železo pro organismus biologicky dosažitelné, může dojít ke vzniku anémie z nedostatku železa.

Naopak při nadbytku železa dochází k jeho hromadění v orgánech a tkáních, akumulace není rozložena rovnoměrně. Nejvíce postižené orgány nahromaděným železem jsou játra, slinivka břišní, srdce, endokrinní orgány a klouby. Jelikož je železo vysoce reaktivním prvkem, může přílišná akumulace v játrech vést k oxidačnímu stresu a poté k poškození funkce orgánu (Horák 2010, s. 73; Ryan, Foug, Gioscia–Ryan, et al. 2021, s. 820; Weiss 2010, s. 50).

Fe²⁺ ve tkáních urychluje produkci velmi reaktivních nebezpečných kyslíkových radikálů z peroxidu vodíku a spolu s dalšími reaktivními sloučeninami katalyzují poškození proteinů, lipidů a nukleových kyselin (Horák 2010, s. 73).

Velmi citlivá vůči nadměrnému obsahu železa je tkáň mozková, neboť pro mozek je tento kov nezbytný pro sled klíčových procesů (produkce energie, synaptická aktivita, syntéza a metabolismus neurotransmiterů). I v této tkáni musí být hladina železa důkladně regulována, neboť neřízená homeostáza železa vedoucí k jeho akumulaci a významně přispívá k poruše mozkové tkáně. Jelikož je regulace homeostázy železa v mozku oddělená od periferie, na jeho hladinu v mozkové tkáni nemá vliv úprava periferního železa. Homeostáza železa v mozkové tkáni je řízena přes hematoencefalitickou bariéru (D'Mello, Kindy 2020, s. 1444, 1447).

2.2 Nedostatek železa

Stav, kdy organismus trpí nedostatkem železa, se také nazývá sideropenie. Nerovnovážná situace mezi vstřebáváním železa a jeho ztrátou je zapříčiněna souborem činitelů. Mezi rizikové vlivy rozvoje sideropenie se řadí zvýšené využití železa organismem, nedostatečný příjem železa, snížené vstřebávání a nadměrné ztráty železa. Příčiny nedostatku železa v těle jsou popsány v tabulce 2. Fyziologicky dochází ke ztrátě železa u žen menstruační krví a zvýšený příjem tohoto prvku si organismus žádá v období růstu nebo v těhotenství (Válka, Čermák 2018, s. 279; Steinerová, Lysák, Jindra 2018, s. 81).

Tabulka 2: Příčiny nedostatku železa v organismu (upraveno dle Luchowska–Kocot 2014)

Příčiny nedostatku železa v organismu	
Příčiny	Příklady
Zvýšené ztráty železa	Akutní krvácení
	Chronické krevní ztráty u maligních a nemaligních chorob trávicího systému
	Menstruace
	Hemolýza
Snížený příjem železa ve stravě	Darování krve
	Vegetariánská strava
	Podvýživa
Snížená absorpce železa	Psychiatrické onemocnění
	Vysoké pH v žaludku
	Celiakie

	Onemocnění střev
	Částečná resekce žaludku
Zvýšené požadavky na železo	Růst
	Těhotenství
	Laktace

Nejvýznamnějším ukazatelem nedostatku železa v organismu je snížená koncentrace sérového feritinu, jelikož jeho hodnota specificky vypovídá o množství celkových tělesných zásob železa. Snížená hodnota feritinu v séru pod 15 µg/l potvrzuje nedostatek železa v organismu, ovšem díky vyšší citlivosti a obdobné specifitě se více používá hodnota < 30 µg/l. V souvislosti s dalšími parametry, jako je hladina železa v séru a koncentrace hemoglobinu se sideropie rozděluje na tři stádia – prelatentní, latentní a manifestní (Cappellini, Musallam, Taher 2020, s. 160; Válka, Čermák 2018, s. 279). V tabulce 3 jsou uvedeny laboratorní parametry stanovované v souvislosti s nedostatkem železa. Prelatentní stádium sideropie je charakterizováno úbytkem zásob železa, avšak v této fázi ještě nedochází ke znevýhodnění erythropoézy. Organismus se snaží vyrovnat ztrátu zásob železa tím, že zvýší jeho vstřebávání v gastrointestinálním traktu, omezí výdej železa a potlačí tvorbu feritinu. Laboratorně je detekována snížená koncentrace feritinu v séru, hodnoty hemoglobinu a sérového železa jsou v normě (Čermák 2014, s. 362).

Latentní stádium sideropie nastává v okamžiku, kdy jsou zásoby železa vyčerpány. Dochází k poklesu dodávky železa pro erythropoézu, v séru je zjištěna snížená hladina feritinu a železa. Naopak zvýšené hodnoty vykazuje celková vazebná kapacita transferinu pro železo. U této fáze sideropie je velmi důležitá včasná diagnostika, tomu napomáhá kombinace testu hladiny feritinu v séru a saturace transferinu, která klesá pod 16 % (Čermák 2014, s. 362; Al-Naseem, Sallam, Choudhury, et al. 2021, s. 107). Zánětlivý proces může značně ztížit diagnostikování sideropie, neboť feritin je raktantem akutní fáze, a i přes omezenou dostupnost železa může být jeho hladina v séru v normě nebo dokonce zvýšená (Cappellini, Musallam, Taher 2020, s. 160).

Posledním stádiem sideropie je stádium manifestní, které přechází v sideropenickou anémii. Kromě poklesu hladiny železa a feritinu v séru dochází i k poklesu hodnot hemoglobinu. Saturace transferinu se snižuje pod 10 % a hladina feritinu v séru klesá pod 5 µg/l (Čermák 2014, s. 362).

Tabulka 3: Laboratorní parametry pro hodnocení stavu železa (upraveno dle Elstrott, Khan, Olson, et al. 2020)

Laboratorní parametry pro hodnocení stavu železa v organismu				
	Zdravý dospělý člověk	Prelatentní sideropenie	Latentní sideropenie	Sideropenická anémie
Sérové železo (μmol/l)	V normě (10–30)	V normě	Sníženo	Sníženo
Saturace transferinu (%)	V normě (17–44)	V normě	Pod 16 %	Pod 10 %
Sérový feritin (μg/l)	V normě (ženy: 20–200 muži: 40–300)	Snížen	Zřetelně snížen	Zřetelně snížen
Hemoglobin (g/l)	V normě (ženy: 120–160 muži: 130–170)	V normě	V normě	Snížen

2.2.1 Anémie z nedostatku železa

Anémie je nezdravý stav vystihovaný snížením hladiny hemoglobinu a hematokritu pod fyziologické rozmezí v závislosti na pohlaví a věku. Jelikož je anémie pouze příznakem onemocnění, nikoliv diagnózou, je nezbytné chorobu vypátrat a následně zahájit léčbu (Steinerová, Lysák, Jindra 2018, s. 80). Anémie z nedostatku železa nebo také sideropenická anémie se řadí k nejčastějšímu typu anémie. Pro sideropenickou anémii je typický nález erytrocytů menší velikosti neboli mikrocytů a také snížená barevnost produkovaných červených krvinek. Hlavní příčinou tohoto druhu anémie je omezený příjem a nedostatečné vstřebávání železa, zvýšené požadavky na železo v období dospívání a těhotenství, vydatná krevní ztráta v průběhu menstruace a karcinom (Elstrott, Khan, Olson, et al. 2020, s. 154).

Pacienti trpí únavou, bolestí hlavy a dušností. Anémie z nedostatku železa má pro postiženého řadu klinických následků. Onemocnění má dopad na ledviny, projevující se sníženou kvalitou života u chronického onemocnění ledvin a častější hospitalizací pacientů s chronickým onemocněním ledvin kvůli kardiovaskulárním komplikacím. Nemocného ovlivňují i další klinické důsledky jako je bledost, atrofická glositida, alopecie. Sideropenická anémie ohrožuje těhotné ženy nejen zvýšeným rizikem předčasného porodu, ale také vyšším nebezpečím úmrtí

ženy během těhotenství (Elstrott, Khan, Olson, et al. 2020, s. 154; Cappellini, Musallam, Taher 2020, s. 158).

2.2.2 Sideroblastická anémie

Při sideroblastické anémii není organismus schopen dostatečně využívat železo v erytrocytu ke vzniku hemoglobinu. Nadbytečné železo se hromadí v mitochondriích prekurzorových erytrocytů. Proto je typickým znakem tohoto onemocnění přítomnost prstencových sideroblastů v kostní dřeni.

Rozlišují se dvě formy sideroblastické anémie – dědičné, získané. Příčinou nejčastější dědičné sideroblastické anémie je mutace genu delta-aminolevulinát syntázy 2, který se souvisí s biosyntézou hemu. Jelikož je vázaná na X chromozom, tento druh vrozené sideroblastické anémie se projevuje pouze u mužů.

Získaná sideroblastická anémie se v populaci vyskytuje více než vrozená forma. Mnohdy je součástí myelodysplastického syndromu, ale příčinou může být také užívání drog, nedostatek vitamínu B6 a nadměrná konzumace alkoholu (Abu-Zeinah, DeSancho 2020, s. 305–307; Braunstein 2021).

2.3 Léčba

Včasná diagnostika v raném období nemoci obvykle přispívá k útlumu symptomů a zlepšení stavu jedince.

První volbou léčby je flebotomie, kterou indikuje lékař zejména u pacientů, kteří netrpí nevratným poškozením koncových orgánů. Hlavním cílem flebotomie je likvidace přebytečného železa, aby se zamezilo dalšímu poškození tkáně. Tento druh léčby se doporučuje pacientům se zvýšenou hladinou sérového feritinu nebo zvýšenou saturací transferinu nad 45%. Výsledkem flebotomie může být i zlepšení funkce srdce, redukce nadměrné pigmentace kůže a nižší riziko jaterních komplikací. Někteří lékaři se mylně opírají pouze o laboratorní detekci vysoké hodnoty sérového feritinu, z čehož usuzují, že jedinec trpí přetížením železem a následně zahajují léčbu flebotomií. Diagnostika by se měla opírat i o genetické testy, neboť pacienti bez homozygotní mutace C282Y pro gen HFE nemusí v každém případě mít přetížení železem (Brissot, Pietrangelo, Adams, et al. 2018; Kane, Roberts, Paulus 2021, s. 268). Léčba flebotomií se realizuje u pacienta týdenním odběrem krve v objemu 500 ml. Proces se opakuje každý týden než se hladina sérového feritinu sníží na 50 µg/l. Před každou flebotomií se obvykle kontroluje hladina hemoglobinu. Následně se flebotomie provádí pouze třikrát, až čtyřikrát

ročně. Poté je důležité sledování hladiny železa u pacienta, hodnota feritinu v séru by se měla držet kolem 50 µg/l.

Další možností volby je erythrocytaferéza, ovšem tato léčba aferézou červených krvinek je značně restriktivní dostupností a cenou (Kane, Roberts, Paulus 2021, s. 268).

Jinou možností terapie je perorální chelatace. Jedná se sice o méně invazivní terapii, bohužel s četnými nežádoucími účinky. Chelatační léčba se indikuje například u pacientů s juvenilní hemochromatózou, nebo v situaci kontraindikace či neúčinnosti flebotomie (Brissot, Pietrangelo, Adams, et al. 2018).

Léčba X-vázané sideroblastické anémie spočívá zejména v suplementaci pyridoxinem, jež je žádoucí k syntéze hemu (Ducamp, Fleming 2019). Terapie nedostatku železa zahrnuje perorální podávání železa a intravenózní aplikaci železa. Nespornou výhodou podávání přípravků s železem perorální cestou je nízká cena a menší míra zátěže pro pacienta. Nejčastěji podávané preparáty obsahují dvojmocnou formu železa napojenou na cukerné komplexy. Kvůli omezené absorpci perorálního železa se jeho velká část zadržuje ve střevě. To může způsobit gastrointestinální potíže, nevolnost, bolest břicha a zvracení. Blahodárný vliv na tuto léčbu má vitamín C a vitamín D, neboť vitamín C zvyšuje vstřebávání železa díky své aktivitě na redukčních krocích železité formy. Vitamín D přispívá k absorpci železa, proliferaci erytroidních prekurzorů a blokuje uvolňování zánětlivých cytokinů.

Pokud pacient trpí nesnášenlivostí suplementace železa ústy, má zažívací obtíže nebo je nutné pohotově železo dodat, je nutná intravenózní aplikace léčby. Tento způsob terapie je však nákladnější, aplikaci musí provádět zdravotnický personál (Nielsen, Soendergaard, Vikner, et al. 2018).

3. Diagnostika

3.1 Hematologické vyšetření

Hematologické vyšetření zahrnuje zejména vyšetření červeného krevního obrazu a ruční zhotovení a obarvení nátěru krve. Červený krevní obraz klasifikuje zejména červené krevní barvivo, hematokrit, dále pak parametry červených krvinek.

3.1.1 Hemoglobin

Koncentrace hemoglobinu v krvi se detekuje fotometrickou metodou. Obecným principem je uvolnění hemoglobinu z erytrocytu a následná přeměna na stabilní barevný komplex, jehož koncentrace je stanovena pomocí spektrofotometru. Existuje několik metod a přístrojů k měření koncentrace hemoglobinu v krvi (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1044).

Hojně využívané zařízení pro měření koncentrace hemoglobinu v krvi je hematologický autoanalyzátor. Tento plně automatizovaný přístroj je dostupný ve většině laboratoří v různých modelech (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1042). Nejvíce využívaná metoda k měření koncentrace hemoglobinu na hematologickém analyzátoru je spektrofotometrická detekční metoda SLS. Hlavní složkou této techniky je sodiumlaurylsulfát (SLS) bez kyanidu využívaný jako lyzační činidlo. Po rozpadu červených krvinek se uvolněný hemoglobin přetvoří a železo zoxiduje. SLS se naváže na hemovou skupinu obsahující oxidované železo a vzniká pevný, barevný komplex SLS–hemoglobin. Barevný celek je detekován fotometrickou metodou (Yadav, Kant, Ramaswamy, et al. 2019, s. 343).

Jiná metoda k detekci koncentrace hemoglobinu v krvi spočívá ve fotometrickém stanovení kyanomethemoglobinu. Principem této metody je oxidace hemoglobinu na methemoglobin vlivem přidání ferikyanidu draselného ke vzorku krve. Následně kyanid draselný působí na vzniklý methemoglobin a ten se mění na kyanomethemoglobin. Látky využívané k přeměně hemoglobinu na stabilní komplex jsou jedovaté a velmi citlivé na světlo. Díky vysoké stabilitě hemoglobin kyanidu je možné tento barevný komplex měřit fotometricky (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1044; Whitehead, Mei, Mapango, et al. 2019, s. 149).

Změnu v laboratorním testování přinesla nová technologie point of care testování (POCT). POCT neboli testování v místě péče lze použít v lokalitě, kde není možné koncentraci analytu stanovit laboratorně nebo jako dodatek k laboratorní detekci. Výhodou metody point of care je možnost okamžitého stanovení výsledku z kapky krve odebrané z prstu pacienta, aniž by byl nutný předchozí transport vzorku do laboratoře. Tím se zmenší časový limit k dosažení výsledku a urychlí odpověď na léčbu. Včasná diagnostika snižuje negativní dopad na zdraví

pacienta (Wilson, Bohn, Adeli 2021, s. 145–146). Zástupcem POCT je přenosný fotometr HemoCue. Zařízení je dostupné v několika modelech, z nichž ty novější již nepotřebují ke svému měření hemolýzu vzorku krve ani kontrolní květy (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, Brittenhm, et al. 2018, s. 1044). Většina modelů HemoCue obsahuje v mikrokyvetě činidla v suché formě potřebná k uvolnění hemoglobinu z červených krvinek a přeměně na azidemethemoglobin. Aby se hemoglobin uvolnil z erytrocytů, je zde přítomen deoxycholát sodný, který zapříčiní lýzu. Za pomoci dusitanu sodného je hemoglobin přeměněn na methemoglobin, který v posledním kroku reaguje s azidem sodným za vzniku azidemethemoglobinu. Měří se absorbance při dvou vlnových délkách, aby se recipročně vyrovnal zákal ve vzorku krve. Předností tohoto přístroje je také cena, bateriový systém a potřeba pouze jedné kapky krve. (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1042; Yadav, Kant, Ramaswamy, et al. 2019, s. 343). Shoda hodnot zařízení HemoCue s hematologickým analyzátozem není vždy příznivá, jelikož hodnotu měření mohou ovlivnit různé faktory – stanovení koncentrace hemoglobinu z kapilární nebo venózní krve, prostředí, profil populace včetně nesprávného měření (Hinnouho, Barffour, Wessells, et al. 2018, s. 532, 537).

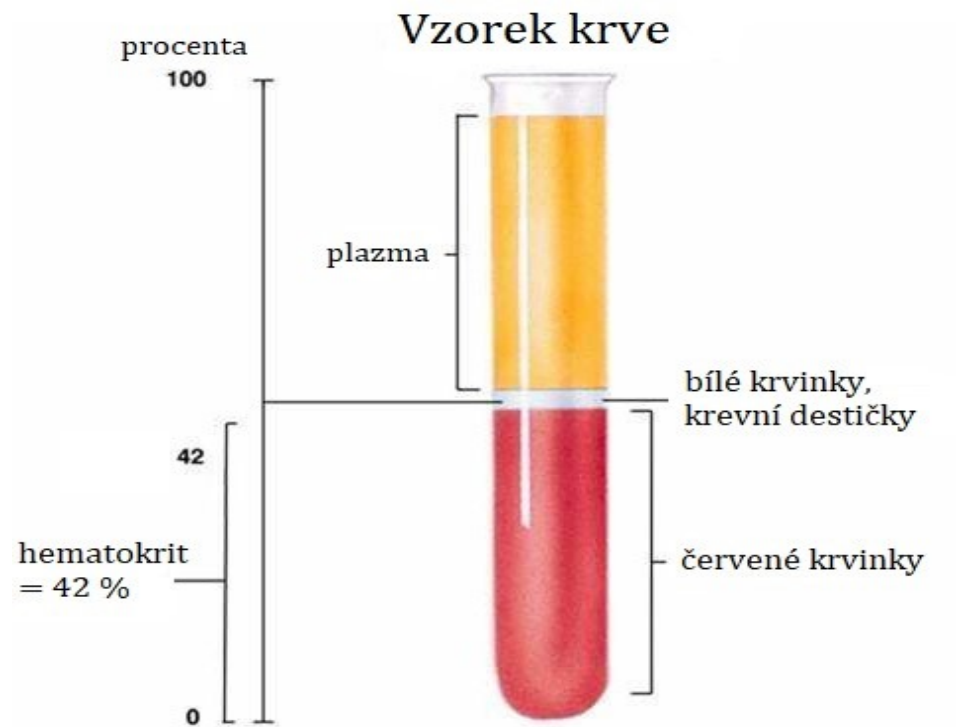
Jiná metoda ke stanovení hemoglobinu nese název fluorescenční průtoková cytometrie. Jde o techniku méně častou, avšak dokáže spočítat a kategorizovat krevní buňky a tím přiblížit lékaři souhrnný obraz zdravotního stavu jedince (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1042).

Tabulka 4: Hemoglobin (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	stanovení koncentrace červeného krevního barviva
Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	
Muži	135–175 g/l
Ženy	120–160 g/l
Snížené hodnoty	nedostatek železa, anémie (získané, vrozené), těhotenství
Zvýšené hodnoty	primární polycytémie, vady srdce, kouření, plicní onemocnění

3.1.2 Hematokrit

Hematokrit udává velikost části erytrocytů z celkového objemu krve, jak je znázorněno na obrázku 5.



Obrázek 5: Hematokrit (převzato a upraveno dle Skálová 2011)

Stanovení koncentrace hematokritu má zásadní význam zejména v kombinaci s měřením hladiny hemoglobinu v krvi, neboť tato dvojice laboratorních parametrů je výborným ukazatelem anémie. Dále je měření hematokritu prospěšné pro brzkou diagnostiku polycytémie, krevní doping či odhalení vnitřního krvácení.

Metod ke stanovení hladiny hematokritu v krvi je několik druhů. Nejvíce využívanou technikou je měření hematokritu z plné krve na automatickém analyzátoru, která nahradila dříve používané stanovení mikrohematokritu. Principem mikrohematokritové metody je naplnění kapiláry s protisrážlivým činidlem krví a po odstředění se změří výška oddělných červených krvinek od plazmy. Výsledná koncentrace hematokritu se početně získá podělením výšky frakce erytrocytů a výšky sloupce celé krve (Pettersson, Jakobsson, Ohlsson, et al. 2018, s. 199–200).

Automatický analyzátor pracuje na Coulterově principu, kdy počítání buněk vychází z elektrické impedance. Složky krve jsou suspendovány v tekutině nesoucí proud a protékají miniaturním otvorem. Jejich odlišná elektrická vodivost je zaznamenána v podobě poklesu proudu (Graham 2022, s. 8). Aby měření bylo průkazné, je zapotřebí dodržet specifické

podmínky. Důležité je zhotovení elektrického pole v kapalině, která vede elektrický proud. Zároveň musí být cesta proudu zúžena do takové míry, že přítomné partikule zapříčiní změnu detekovatelného proudu. Do detekční zóny musí vstoupit jen jedna částice, toho lze dosáhnout dostačujícím zředěním a rozptýlením částic v tekutině (Rhyner 2011, s. 54).

Tabulka 5: Hematokrit (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	poměrové zastoupení červených krvinek v plné krvi pacienta
Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	
Muži	0,400–0,500
Ženy	0,350–0,470
Snížené hodnoty	anémie (získané, vrozené), infuze
Zvýšené hodnoty	nedostatek vody v organismu, nadměrné množství erytrocytů v krvi (polyglobulie)

3.1.3 Počet a velikost erytrocytů

Kvantita červených krvinek se stanovuje z krevního vzorku na automatickém přístroji impedanční metodou s hydrodynamickou fokusací. Po nasátí a naředění vzorku do analyzátoru jsou erytrocyty a ostatní buňky krve unášeny proudem tekutiny. Následně je v detekční komoře měřen elektrický odpor mezi elektrodami. Počet vzniklých impedančních impulzů udává kvantitativní záznam červených krvinek a velikost impulzů vypovídá o kvalitativním údaji erytrocytů.

Další technikou detekce počtu erytrocytů je optická metoda fungující na principu průtokové cytometrie. Krevní buňky v místě měření interagují s laserovým paprskem, poté je měřeno rozptýlené světlo, jehož hodnota uvádí počet prostoupených buněk (Penka, Buliková, Matyšková, et al. 2009, s. 22–25; Pecka, Fátorová, Váchová 2010, s. 75–77).

Tabulka 6: Počet červených krvinek (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	

Muži	4,0–5,8 x 10 ¹² /l
Ženy	3,8–5,2 x 10 ¹² /l
Snížené hodnoty	anémie, krvácivé stavy, systémová onemocnění
Zvýšené hodnoty	vrozené srdeční choroby, talasémie, primární polycytémie, po náročném sportovním výkonu

3.1.4 Střední objem erytrocytu

Střední objem erytrocytu (MCV) se detekuje impedanční metodou nebo se hodnota získá dělením hodnoty hematokritu a počtu červených krvinek (Penka, Buliková, Matyšková, et al. 2009, s. 22–24).

Tabulka 7: Střední objem erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	82,0–98,0 fl
Snížené hodnoty	anémie z nedostatku železa
Zvýšené hodnoty	perniciózní anémie, cirhóza jater

3.1.5 Střední množství hemoglobinu v erytrocytu

Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH) je počítaný parametr. Jeho hodnota se získá dělením hemoglobinu a počtu erytrocytů (Penka, Buliková, Matyšková, et al. 2009, s. 22–24).

Tabulka 8: Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	28–34 pg
Snížené hodnoty	anémie z nedostatku železa
Zvýšené hodnoty	makrocytární anémie, dědičná sférocytóza

3.1.6 Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Hodnoty průměrné koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC) se docílí podílem koncentrace hemoglobinu a hematokritu (Penka, Buliková, Matyšková, et al. 2009, s. 22–24).

Tabulka 9: Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Materiál	plná krev
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	320–360 g/l
Snížené hodnoty	anémie z nedostatku železa, toxické dávky zinku, talasemie
Zvýšené hodnoty	makrocytární anémie, dědičná sférocytóza

3.1.7 Barvení na železo

K průkazu železa barvicí technikou Perlovovy reakce lze kromě krevního vzorku využít aspirát kostní dřene či jiné tělní tekutiny. Odebraný materiál se po odběru nanese na podložní sklo a zhotoví se nátěr, který je nutno fixovat methyllalkoholem. Perlovou reakcí je možno identifikovat zásobní formy železa – feritin a hemosiderin, vyskytující se v červených krvinkách (sideroblasty, siderocyty). Barvitelné železo se v podobě hemosiderinu hojně nachází v makrofázích (siderofágy).

Principem barvení je reakce feroxyanidu draselného s Fe^{3+} v prostředí s kyselinou chlorovodíkovou. Následně vzniká nerozpustný modře zbarvený pigment feroxyanid železitý. V krevním nátěru se mikroskopicky hodnotí kvantita buněk obsahující částičky železa (Ghio, Roggli 2021, s. 1–2; Pecka 2006, s. 78).

3.2 Biochemické indikátory

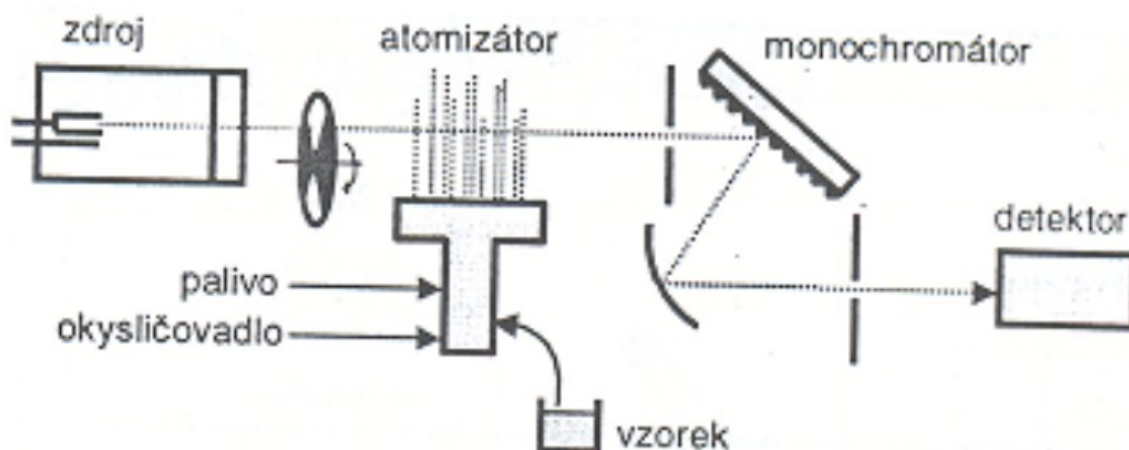
Hodnoty koncentrace sérového železa, celková vazebná kapacita pro železo a saturace transferinu se většinou interpretují společně. Tyto parametry zpravidla neslouží k prvotní diagnostice, nýbrž k potvrzení a monitorování léčby pacientů s intoxikací železem či ke screeningu onemocnění se zvýšeným množstvím železa v těle (Nezbeda 2018a, s. 16; Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1044).

Stanovení koncentrace rozpustných transferinových receptorů, protoporfyrinu erytrocytů a hodnoty saturace transferinu udává míru zásobování železem (Pfeiffer, Looker 2017, s. 1607).

3.2.1 Stanovení sérového železa

Standardně se koncentrace železa v séru (SI) vyšetřuje na zcela automatizovaných chemických analyzátoch. (Ficiarà, Munir, Boshi, et al. 2021). Biochemický analyzátor měří tento parametr na principu fotometrického stanovení. V séru se železo vyskytuje navázané na sérový transferin ve formě Fe^{3+} , vlivem kyselého prostředí se železo uvolní z vazby na transferin. Následuje redukce pomocí kyseliny askorbové z Fe^{3+} na ionty železnaté, které reagují s chromogenem za vzniku zbarveného komplexu. Chromogeny mohou být ferrin, ferozin či Ferene. Síla zabarvení vzniklého komplexu je přímo úměrná koncentraci železa ve vzorku krve. Konečným krokem je fotometrické měření zbarveného komplexu (Ficiarà, Munir, Boshi, et al. 2021; BioVendor 2018).

Další využívanou metodou stanovení koncentrace SI je použití atomové absorpční spektrofotometrie (AAS). Tato technika je vzhledem k vyšší ceně přístrojového vybavení dostupná zejména ve výzkumných laboratořích. Zároveň je nezbytné odstranit bílkoviny ze séra, neboť by mohly rušit stanovení. Na obrázku 6 je vyobrazeno schéma jednopaprskového atomového absorpčního spektrometru. (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1044; Nezbeda 2018a, s. 14).



Obrázek 6: Schéma jednopaprskového atomového absorpčního spektrometru (převzato z Klouda 2003)

Základem atomové absorpční spektrometrie je pohlcení záření nevázanými atomy v plynném stavu. Velmi podstatná je přeměna vzorku do plynného stavu. Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou. Záření následně putuje do atomizátoru, do této části se dostává vzorek po zmlžení v podobě aerosolu. Následuje úprava vzorku v atomizátoru, který je zásobníkem volných atomů. Další částí atomového absorpčního spektrometru je monochromátor, jenž

skrz mřížku soustředí paprsky na detektor. Jako detektor se hojně využívá fotonásobič (Klouda 2003, s. 67–69).

Je zapotřebí brát zřetel na ovlivnění hodnot železa v séru, neboť podléhá cirkadiálnímu rytmu (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1044).

Tabulka 10: Sérové železo (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	indikátor koncentrace železa v krvi
Materiál	sérum
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	5,83–34,5 $\mu\text{mol/l}$
Snížené hodnoty	deficit železa, opakované ztráty krve, selhání ledvin, infekce, karcinom
Zvýšené hodnoty	otravy železem, hemochromatóza, porfyrie

3.2.2 Stanovení saturace transferinu

Stejně jako koncentrace železa v séru i saturace transferinu je ovlivněna cirkadiální periodou, hodnoty těchto parametrů v ranních hodinách dosahují svého maxima. Měřením saturace transferinu (TSAT) se získají data o funkčnosti transportu železa a o jeho přiměřeném dodávání. Hodnota saturace transferinu se získá počteně, vyjadřuje procentuální zastoupení míst na vazbu veškerých molekul transferinu s navázaným železem (Ficiarà, Munir, Boshi, et al. 2021). Výpočet hodnoty TSAT se provádí na základě dostupných hodnot ostatních parametrů, buď jako poměr koncentrace sérového železa a transferinu nebo koncentrace železa v séru a celkové vazebné kapacity pro železo (TIBC). Neméně důležitá je výsledná korekce výpočtu na procenta.

Referenční meze záleží zejména na pohlaví, věku či použitém detekčním přístroji, nicméně hodnoty TSAT nižší než 15 % prokazují nedostatek železa v těle. Naopak index TSAT vyšší než 45 % dokazuje, že organismus trpí přetížením železem (Ficiarà, Munir, Boshi, et al. 2021; Pfeiffer, Looker 2017, s. 1607).

Tabulka 11: Saturace transferinu (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

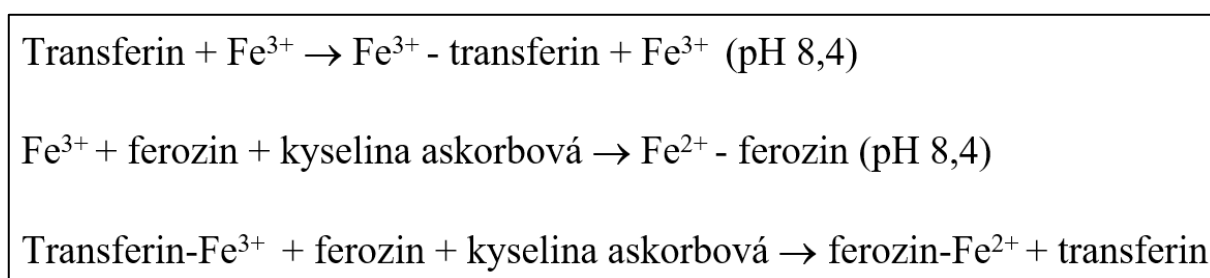
Charakteristika	poměr transferinu nasyceného železem na globálním transferinu
Referenční meze	0,16–0,45 (hmotnostní podíl)
Snížené hodnoty	nedostatek železa – sideropenická anémie

Zvýšené hodnoty	nadbytek železa – hemochromatóza, hemosideróza
-----------------	---

3.2.3 Stanovení celkové vazebné kapacity pro železo

Celková vazebná kapacita pro železo (TIBC) úzce souvisí s transferinem, neboť TIBC označuje největší početní zastoupení železa, které je schopno se navázat na transferin. V situaci, kdy je laboratorně detekována hodnota nenasycené vazebné kapacity pro železo (UIBC), je možno číselného vyjádření TIBC dosáhnout součtem koncentrace železa v séru a UIBC.

I přesto, že lze koncentraci celkové vazebné kapacity pro železo získat jednoduchým výpočtem, byla vyvinuta metoda stanovení hodnoty TIBC pomocí modifikovaného plně automatizovaného testu z důvodu nezávislého výsledku, jelikož pokud koncentrace železa v séru nebo nenasycené vazebné kapacity pro železo nedosahují detekčního rozmezí, není možné z těchto údajů koncentraci TIBC početně získat. Princip modifikované, zcela automatizované techniky stanovení TIBC se skládá ze tří částí, které jsou vyobrazeny na obrázku 7. Nejprve je v alkalickém prostředí transferin v séru saturován železitým kationtem, železo, které se nenavázalo na transferin je zjednodušeno kyselinou askorbovou na dvojmocné. Následuje jeho eliminace a tvorba sloučeniny s chromogenním činidlem (ferozinem). Na závěr se odštěpí trojmocné železo z transferinu a v kyselém prostředí vnikne komplex přiměřený TIBC. Detekuje se změna absorpance primární a referenční vlnové délky (Yamanishi, Iyama, Yamaguchi, et al. 2002, s.1565–1566).



Obrázek 7: Reakční kroky modifikovaného testu TIBC (převzato a upraveno dle Yamanishi, Iyama, Yamaguchi, et al. 2002, s. 1566)

Princip automatizovaného testu pro TIBC byl zdokonalen za vzniku stanovení celkové vazebné kapacity pro železo na analyzátoru Dimension. V této metodě se však využívá jako chromogen ferene (De, Roberts 2003, s. 51).

Tabulka 12: Celková vazebná kapacita pro železo (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	parametr kapacity vazby železa s transferinem
Referenční meze	40–70 $\mu\text{mol/l}$
Snížené hodnoty	choroby ledvin, hemolytické stavy, chronické infekce
Zvýšené hodnoty	deficit železa - anémie z nedostatku železa, virová hepatitida

3.2.4 Stanovení sérového feritinu

Koncentrace feritinu v séru u zdravého jedince reflektuje rezervy železa v lidském těle (Nezbeda 2018a, s. 17). Jelikož je tento citlivý parametr nedostatku železa reaktantem akutní fáze, stoupá koncentrace feritinu v séru při dlouhotrvající infekci a chronické zánětlivé nemoci, kterou může být ledvinové onemocnění, revmatoidní artritida či malignity (Ficiarà, Munir, Boshi, et al. 2021; Nezbeda 2018a, s. 17).

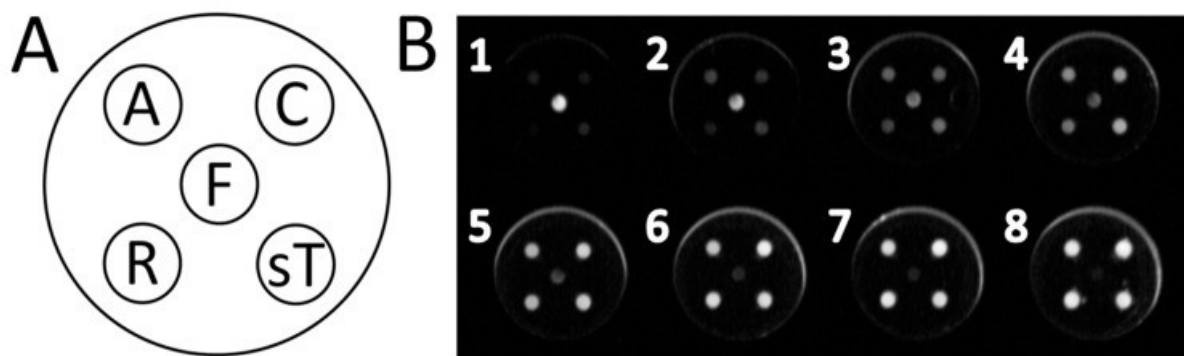
Metod stanovení hodnoty sérového feritinu je několik. Většina laboratoří detekuje tento parametr na automatizovaném analyzátoru, princip měření záleží na použitém modulu. V metodě chemiluminiscenční imunoanalýzy na mikročásticích se uplatňuje imunotest ve dvou krocích. Na mikropartikule pokryté antiferitinem se naváže feritin ze vzorku séra. Následuje promytí a reakční směs vznikne dodáním akridiniového konjugátu. Velmi důležitou úlohu zde mají přidané reagensy Pre-Trigger a Trigger, neboť zamezí unáhlené emisi záření a napomůžou oxidaci chemiluminiscenční sloučeniny a tím podpoří vytváření světla. Míra chemiluminiscenční odezvy se udává jako relativní světelné jednotky (Guo, Yang, Feng 2018; Nezbeda 2018b, s. 33).

Prvotně se feritin v séru stanovoval imunoturbidimetrickými testy, avšak vývojovými kroky se postupně začala tato metoda vyřazovat. Metoda ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) je další využívanou technikou k měření koncentrace sérového feritinu především v laboratořích, která nemá automatický analyzátor. Možné úskalí u metody ELISA může být v manuálním provedení, jelikož je nutné dodržet přesné pipetování a důsledné časové provedení (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1043, 1045; Karakochuk, Whitfield, Rappaport, et al. 2017, s. 65–66). Enzymově vázaný imunisorbentní test se provádí na mikrotitračních destičkách s plochým dnem. Na spodu jamky se nachází protilátka proti feritinu. Po

napipetování kalibrátoru, kontroly, vzorku séra a konjugátu následuje inkubace na třepačce. Konjugátem je myší anti-feritinová protilátka značená křenovou peroxidázou. Před přidáním TMB (tetramethylbenzidin) substrátu do jamek je nutné destičku řádně promýt. Samotná detekce vzniklého zabarvení po inkubaci probíhá při vlnové délce 450 nm pomocí čtečky mikrodestiček (Dahman, Sumaily, Sabi, et al. 2022).

Novějším typem enzymově vázaného imunosorbentního testu je multiplexní imunotest ELISA, kterým lze měřit současně pět parametrů – feritin, C–reaktivní protein (CRP), retinol vázající protein 4 (RBP), rozpustný transferinový receptor (sTfR) a α –1–kyselý glykoprotein (AGP). Vzhledem k nižším finančním nákladům testu a možnosti detekovat simultánně více parametrů je hojně vyhledávanou metodou. V imunotestu se hodnota koncentrace feritinu v séru opírá o stanovení vazby specifické protilátky. Laboratorně se mohou výsledky mírně lišit z důvodu měření jiné izofomy feritinu, jelikož hodnota izofomy nacházející se ve slezině je odlišná od izofomy feritinu v játrech (Karakochuk, Whitfield, Rappaport, et al. 2016, s. 65–66). Jelikož vitamín A má silné pojítko s retinol vazebným proteinem, slouží detekce parametru RBP k přehledu vitamínu A (retinolu) v krvi. Snížené hodnoty laboratorního ukazatele RBP v kombinaci se zvýšenou hladinou feritinu signalizují infekci v těle pacienta. Zda se jedná o infekci akutní rozezná CRP. Je důležité zhodnotit výsledky CRP, popřípadě z hodnocení vyřadit pacienty se zvýšenou hodnotou, neboť by mohlo dojít k chybně nízkému měřítku pacientů s nedostatkem železa či vysokému rozsahu postižených s deficitem vitamínu A (Erhardt, Estes, Pfeiffer, et al. 2004, s. 3127).

Samotné provedení multiplexní imunoanalýzy metodou ELISA se provádí na destičce pokryté záchytnou protilátkou, která se naváže na antigeny ve vzorku zředěného séra. Po dvouhodinovém časovém intervalu se do jamek napipetuje detekční protilátka. Prostřednictvím chemiluminiscence vytvořené streptavidinovou křenovou peroxidázou se odhalí vazby detekčních skupin. Rozložení multiplexních testů je na obrázku 8. Nespornou výhodou metody ELISA je citlivost. Pro tuto techniku lze použít i vzorek krve odebraný z prstu (Brindle, Stevens, Crudder, et al. 2014; Karakochuk, Herderson, Samson, et al. 2018; Erhardt, Estes, Pfeiffer, et al. 2004, s. 3129–3130).



Obrázek 8: Rozložení multiplexních testů v jamce destičky (převzato z Brindle, Stevens, Crudder, et al. 2014)

Část A: A – α -1-kyselý glykoprotein; C – CRP; F – feritin; R – retinol vázající protein 4; sT–sTfR

Část B: chemiluminiscence jamek vytvářená z testovacích bodů; jamka 1 – nejvyšší koncentrace standardu; jamky 2 až 7 – řada dvojnásobného ředění standardu; jamka 8 – negativní kontrola

Hojně využívaná je také metoda elektrochemiluminiscenčního stanovení feritinu ve vzorku lidské krve. Velký význam v této technice mají monoklonální protilátky specifické pro feritin, jedna je značená biotinem a druhá rutheniem. Obě monoklonální protilátky v době inkubace vytvoří se vzorkem séra sendvičový komplex. Následuje dodání mikročastic potažených streptavidinem, během druhé inkubace se komplex spojí s pevnou fází. Toto navázání je uskutečněno díky vzájemnému působení streptavidinu a biotinu. V samotném procesu měření je reagující směs nasáta do měřicí komůrky. Komplex s mikročasticemi je zadržen magnetem a nežádoucí nenavázané látky jsou zlikvidovány promývacím krokem. Na závěr se fotonásobičem měří chemiluminiscenční emise, která byla navozena napětím na elektrodách (Dahman, Sumaily, Sabi, et al. 2022; Roche Diagnostics, 2014).

Koncentrace feritinu v séru je také detekována imunoturbidimetrickou metodou, ve které se pro zintenzivnění využívá latex. Feritin ve vzorku aglutinuje s částicemi latexu, jež mají na svém povrchu anti-feritinové protilátky. Vzniklá sraženina je stanovena turbidimetricky (Dahman, Sumaily, Sabi, et al. 2022, Roche Diagnostics, 2019).

Tabulka 13: Sérový feritin (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	počáteční indikátor úbytku železa v organismu
Materiál	sérum
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	
Muži	30 – 400 $\mu\text{g/l}$

Ženy	13 – 150 µg/l
Snížené hodnoty	sideropenická anémie
Zvýšené hodnoty	nadměrné množství železa v organismu, zánětlivé onemocnění

3.2.5 Stanovení rozpustného transferinového receptoru

Solubilní transferinový receptor (sTfR) je strukturně monomerním glykoproteinem, odseparoval se od transmembránového proteinu TfR. Na hodnotu koncentrace sTfR nepůsobí zánětlivá reakce v organismu oproti jiným parametrům stanovovaným ke zjištění metabolismu železa (Zhu, Liu, Zhao, et al. 2022; Suega, Kandarini, Tubung 2019, s. 98).

Receptorového indexu lze početně docílit poměrem rozpustného transferinového receptoru k logaritmu feritinu (Suega, Kandarini, Tubung 2019, s. 98).

Stanovení koncentrace sTfR v séru je možné za použití imunoenzymatického testu ELISA. Podstatou této sendvičové metodiky detekce je inkubace vzorku séra s monoklonální protilátkou (anti-lidský sTfR), která je již v mikrotitrační destičce. Následuje konjugace s křenovou peroxidázou a substrátem (TMB). Výsledná koncentrace solubilního transferinového receptoru je přiměřená k získané absorbanci na čtečce mikrotitračních destiček (Ambroszkiewicz, Klemarczyk, Mazur, et al. 2017, s. 184).

Některé laboratoře využívají analyzátory, jež hladinu sTfR detekují imunoturbidimetrickou technikou zesílenou částicemi. Latexové částice, na jejichž povrchu se vyskytují navrstvené anti-sTfR protilátky reagují s antigenem ze vzorku séra. Vzniklý komplex antigenu a protilátky se detekuje fotometricky (Zhu, Liu, Zhao, et al. 2022).

Tabulka 14: Rozpustný transferinový receptor (OKB a HTO Chrudimská nemocnice)

Charakteristika	indikátor funkčních zásob železa
Materiál	sérum
Odběrový systém	zkumavka s protisrážlivým činidlem
Referenční meze	
Muži	2,2–5,0 mg/l
Ženy	1,9–4,4 mg/l
Snížené hodnoty	snížená erytropoéza, dřevový útlum

Zvýšené hodnoty	polycytémie, hemolytická anémie, nedostatek železa v těhotenství
-----------------	---

3.2.6 Stanovení zinkového protoporfyrinu

Zinkový protoporfyrin reprezentuje 90% nehemového protoporfyrinu v červených krvinkách. Nehemová forma ferroportinu rovněž obsahuje volný erytrocytární protoporfyrin (Mwangi, Maskey, Andago, et al. 2014). Při poklesu zdroje železa pro vývoj erytrocytů se místo kovu železa do protoporfyrinu včleňuje zinek. Nadměrně vzniká zinkový protoporfyrin (ZPP) namísto hemu, proto je ZPP významným ukazatelem hospodaření železa v červených krvinkách. Fluorimetrie je jedna z metod detekce zinkového protoporfyrinu (Leventi, Aksan, Nebe, et al. 2021; Žourek Lacigová, Krčma, et al. 2007, s. 103).

Hematofluorimetr je snadno ovladatelné zařízení k měření koncentrace ZPP. Aparát hodnotí poměrové zastoupení fluorescence ZPP mezi kvantitou světla, který pohltil oxyhemoglobin. Výsledky parametrů z hematofluorimetru zásadně ovlivňuje dlouhodobé skladování vzorku a jeho vystavování světelným a tepelným paprskům. Nepříznivě na stanovení působí i přítomnost fluorescenčních látek ve vzorku krve, protože fluoreskují v totožném intervalu vlnových délek jako porfyriny. Rušivými parametry fluorescence jsou bilirubin, urobilirubin a riboflaviny. Řešením je k měření používat promyté erytrocyty, jelikož se promytím zlikvidují rušivé veličiny. Pro kompletní separaci ZPP od porfyrinů v plné krvi slouží vysoce účinná kapalinová chromatografie (Mwangi, Maskey, Andago, et al. 2014; Roh, Kim, Kim 2000, s. 372–373).

3.2.7 Stanovení hepcidinu

Hepcidin je novým markerem k vyšetření poruchy homeostázy železa v těle, který se však neprovádí rutinně. Numerická detekce hepcidinu není občas jednoduchá, kvůli shlukování a zachytávání se na stěnách plastových zkumavek. Ke stanovení koncentrace hepcidinu ze séra pacienta se využívá kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií nebo měření imunoalytickou metodou ELISA (Girelli, Nemeth, Swinkels 2016; Sato, Takai, Kazama, et al. 2020).

Metodou hmotnostní spektrometrie lze odlišit bioaktivní formu hepcidin–25 od izoforem hepcidinu, které nejsou aktivní v homeostáze železa. K přípravě vzorku séra pro měření se využívá kyselina trichloroctová. Vzorek je aplikován přes injektor na kolonu kapalinového chromatografu, který odseparuje hepcidin–25 od nečistot ve vzorku. V ředící směsi a mobilní fázi se vyskytují roztoky kyseliny mravenčí, methanolu a acetonitrilu. Kapalinový

chromatograf je vybaven také zařízením k přeměnění látek odseparovaných v tomto přístroji na zdroje iontů pro hmotnostní spektrometrii. Hmotnostní spektrofotometr detekuje strukturu hepcidinu–25 (Abbas, Vranic, Hoffmann, et al. 2018; Sato, Takai, Kazama, et al. 2020).

Výhodou použití metody ELISA je poskytování vysoké propustnosti vzorku a není cenově nákladný. Bohužel imunochemické testy nejsou příliš specifické a stanovují všechny izoformy dohromady. Principem testu je reakce anti-hepcidinové protilátky, vzorku séra a biotin-hepcidinového indikátoru v mikrotitrační destičce. Promývacím krokem se odstraní přebytek indikátoru a po přidání streptavidin-peroxidázy s barevným činidlem se vzniklý barevný produkt detekuje fotometricky. Pro zvýšení selektivity byla k měření hepcidinu–25 použita sendvičová ELISA. I přes kladné vlastnosti této metody s využitím dvojitého rozpoznávání protilátek, neposkytují imunochemické testy při měření tohoto parametru dostatečně validní výsledky (Konz, Montes-Bayón, Vaulont 2014).

4. Preanalytická fáze

Dodržení všech předpokladů preanalytické fáze má zásadní vliv na správnost laboratorních výsledků, neboť více než polovina chyb při laboratorní detekci parametrů vzniká ještě před samotnou analytickou částí vyšetření. Zahrnuje edukaci pacienta před vyšetřením, odběr materiálu, skladování a transport vzorku do laboratoře. Ovlivnitelnými biologickými faktory této fáze je váha pacienta, životní styl, dieta či nadměrné užívání léků. Neovlivnitelné znaky zahrnují rasu, pohlaví a věk vyšetřovaného. Při odběru vzorku je nezbytná správná identifikace a označení zkumavky s biologickým materiálem. Vyšetřovaný pacient by neměl mít na paži přiložené škrtidlo déle než jednu minutu, protože jinak se zvyšuje koncentrace železa v krvi až o 8% (Zima, Kazda, Průša, et al. 2007, s. 4–10).

Odběr venózní krve pro hematologická a biochemická vyšetření se standardně provádí v ranních hodinách po lačnění pacienta zejména ke stanovení koncentrace železa v séru a TIBC, neboť mají významný cirkadiální rytmus. Jelikož stanovení koncentrace hemoglobinu v krvi je možné i z malého objemu vzorku, využívá se i krev kapilární. Odběr kapilární krve se často porovádá z prstu ruky, značnou chybou je mačkání prstu při odběru.

Výhodou při hodnocení parametrů stavu železa je jejich stabilita. Ideálně by měl být vzorek plné krve stočen na centrifuze do dvou hodin po odběru. Získané sérum je stabilní při teplotě 4°C přibližně týden. Při transportu vzorku do laboratoře musí být dodržena optimální teplota (chladič box), krátký časový interval a opatrná manipulace.

Na suchém ledu se transportuje zmrazený vzorek, neboť je nezbytné předejít jeho rozmrazení. Uskladnění vzorku séra je možné při zamrazení na -40°C. Stabilita sérového železa, sérového feritinu a sTfR je vykazována po dobu deseti let při zmrazení vzorku na -70°C (Lynch, Pfeiffer, Georgieff, et al. 2018, s. 1049–1051; Pecka 2010, s. 43; Pfeiffer, Looker 2017, s. 1608–1609).

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsat aktuální poznatky o poruchách metabolismu železa, detekované laboratorní parametry a jejich metody stanovení při poškození metabolismu tohoto biogenního prvku.

Před základní charakteristikou poruch metabolismu železa je důležité pochopit nejprve celý jeho metabolismus. Na jeho začátku je příjem železa v potravě, zejména v nehemové formě Fe^{3+} , která je obsažena v rostlinné stravě. Živočišnou stravou organismus získává hemovou formu železa Fe^{2+} . Jelikož je v duodenu vstřebáváno železo pouze ve formě Fe^{2+} , mechanismus absorpce nehemové formy železa je podstatně složitější, neboť vyžaduje redukční kroky této oxidované formy. Hlavním transportérem vstřebeného železa je transferin, který přepraví kov na místo využití či uskladnění. Zásoba železa v organismu je nejprve tvořena za pomoci feritinu, jakožto hlavní zásobní formy v játrech, slezině a kostní dřeni. Až po překročení skladovací kapacity feritinu se železo ukládá do další zásobní formy nazývané hemosiderin. Železo z hemosiderinu je však v případě potřeby obtížněji mobilizováno. Pro svou toxicitu je nezbytné koncentraci železa v těle regulovat, k tomu slouží na buněčné úrovni systém IRP-IRE a na systémové úrovni peptid hepcidin. Hepcidin je syntetizován v játrech a upravuje transport kovu do plazmy pomocí vazby na ferroportin.

Poruchy metabolismu železa vznikají vlivem jeho nahromadění nebo nedostatku v organismu. Ve stavu primární akumulace železa se rozvíjí onemocnění hemochromatóza, jež má genetický původ a dále se dělí na čtyři druhy. Nejvíce častý typ je HFE hemochromatóza, jejíž příčinou jsou mutace v HFE genu. Při sekundárním hromadění se železo akumuluje do tkání. Sideropenie se vyvíjí při nedostatku železa v organismu, rozděluje se na tři stádia podle hladin koncentrace vyšetřovaných parametrů, zejména sérového železa a koncentrace hemoglobinu. Sideropenická anémie je způsobena především sníženým příjmem nebo omezeným vstřebáváním tohoto prvku. Léčbou hromadění železa v organismu je flebotomie, kterou se odstraní přebytečné železo v těle.

Laboratorní diagnostika poruch metabolismu železa se opírá zejména o hematologické a biochemické vyšetření. Do hematologických parametrů se řadí vyšetření červeného krevního obrazu a barvení krevního nátěru na železo. Biochemické koncentrace sérového železa, saturace transferinu a celkové vazebné kapacity pro železo mají úlohu při sledování léčby a identifikování akumulace železa v těle pacientů. Ke stanovení koncentrace železa v séru se používá atomová absorpční spektrofotometrie a kolorimetrický test (fotometrické stanovení).

Výpočtovou technikou se získá hodnota saturace transferinu, celkové vazebné kapacity pro železo a rozpustného transferinového receptoru. Solubilní transferinový receptor lze laboratorně detekovat imunoturbidimetrickou metodou a imunotestem ELISA. Důležité je také zmínit stanovení sérového feritinu, které lze provést chemiluminiscenční imunoanalýzou na mikročásticích, ale také multiplexní metodou ELISA. Test multiplexní ELISA umožňuje simultánně měřit feritin, C-reaktivní protein, α -1-kyselý glykoprotein, retinol vázající protein 4 a rozpustný transferinový receptor ve vzorku séra. Koncentrace zinkového protoporfyrinu a hepcidinu jsou novější markery vyšetřované v souvislosti s poruchami metabolismu železa.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

ABBAS, Ioana M., Marija VRANIC, Holger HOFFMANN, et al. Investigations of the Copper Peptide Hepcidin-25 by LC-MS/MS and NMR +. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, **19**(8) [cit. 2022-04-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30072660/>

ABU-ZEINAH, Ghaith a Maria T. DESANCHO. Understanding Sideroblastic Anemia: An Overview of Genetics, Epidemiology, Pathophysiology and Current Therapeutic Options. *Journal of Blood Medicine* [online]. 2020, **11**, 305-318 [cit. 2022-06-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7524202/>

AHMED, Nessar. *Clinical biochemistry*. Oxford: Oxford University Press, 2011, 693 s. ISBN 978-0-19-953393-0.

AHMED, Mostafa H., Mohini S. GHATGE a Martin K. SAFO. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins. Subcellular Biochemistry* [online]. 94. Springer, Cham, 2020, s. 345–382 [cit. 2022-05-07]. ISBN 978-3-030-41769-7. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-41769-7_14#citeas

AL-NASEEM, Abdulrahman, Abdelrahman SALLAM, Shamim CHOUDHURY, et al. Iron deficiency without anaemia: a diagnosis that matters. *Clinical Medicine Journal* [online]. 2021, **21**(2), 107-113 [cit. 2022-02-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8002799/>

AMBROSZKIEWICZ, Jadwiga, Witold KLEMARCZYK, Joanna MAZUR, et al. Serum Hepcidin and Soluble Transferrin Receptor in the Assessment of Iron Metabolism in Children on a Vegetarian Diet. *Biological Trace Element Research* [online]. 2017, **180**(2), 182-190 [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28342014/>

ANDERSON, Gregory J a David M FRAZER. Current understanding of iron homeostasis. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2017, **106**(Suppl 6), 1559-1566 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701707/>

ANDERSON, Gregory J. a Edouard BARDOU-JACQUET. Revisiting hemochromatosis: genetic vs. phenotypic manifestations. *Annals of Translational Medicine* [online]. 2021, **9**(8) [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8106074/>

- ANDERSON, Cole P., Lacy SHEN, Richard S. EISENSTEIN, et al. Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins. *Biochimica et Biophysica Acta* [online]. 2012, **1823**(9) [cit. 2022-06-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3675657/#!po=4.80769>
- BARTON, James C, Corwin Q EDWARDS, Margaret P ADAM, et al. HFE Hemochromatosis. GeneReviews [online]. 2018 [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20301613/>
- BĚLOHLÁVKOVÁ, Petra. Postavení hepcidinu v diagnostice a léčbě anémií. *Medicína pro praxi*. 2011, **8**(3), 127-129.
- BioVendor – Laboratorní medicína a.s. [online]. Brno, 2018 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.biovendor.cz/zelezo/p91.12962/#tab=popis>
- BOUTON, Cécile a Jean-Claude DRAPIER. Iron regulatory proteins as NO signal transducers. *Science's STKE* [online]. 2003, **182** [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12746546/>
- BRAUNSTEIN, Evan M. Sideroblastic Anemias [online]. 2021 [cit. 2022-06-01] Dostupné z: <https://www.msmanuals.com/professional/hematology-andoncology/anemias-caused-by-deficient-erythropoiesis/sideroblastic-anemias>
- BRINDLE, Eleanor, Daniel STEVENS, Christopher CRUDDER, et al. A multiplex immunoassay method for simultaneous quantification of iron, vitamin A and inflammation status markers. *PLOS ONE* [online]. 2014, **9**(12) [cit. 2022-06-04]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25525806/>
- BRISSOT, Pierre, Antonello PIETRANGELO, Paul C. ADAMS, et al. Haemochromatosis. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. 2018, **4** [cit. 2022-03-08]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nrdp201816#citeas>
- CAMASCHELLA, Clara, Antonella NAI a Laura SILVESTRI. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica* [online]. 2020, **105**(2), 260-272 [cit. 2022-04-17]. Dostupné z: <https://haematologica.org/article/view/9512>
- CAPPELLINI, M. D., K. M. MUSALLAM a A. T. TAHER. Iron deficiency anaemia revisited. *Journal of Internal Medicine* [online]. 2020, **287**(2), 153-170 [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31665543/>

ČERMÁK, Jaroslav. Léčba anémie a nedostatku železa z pohledu hematologa. *Kardiolog Rev Int Med* [online]. 2014, **16**(5), 359-363 [cit. 2022-03-10]. Dostupné z: <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2014-5/lecba-anemie-a-nedostatku-zeleza-z-pohledu-hematologa-50142>

ČERMÁK, Jaroslav. Léčba anémie a nedostatku železa z pohledu hematologa. *Kardiolog Rev Int Med*. 2014, **16**(5), 359-365.

DAHMAN, Lotfi S. Bin, Khalid M. SUMAILY, Essa M. SABI, et al. A Comparative Study for Measuring Serum Ferritin Levels with Three Different Laboratory Methods: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay versus Cobas e411 and Cobas Integra 400 Methods. *Diagnostics* [online]. 2022, **12**(2) [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8870818/>

DE, Barun K. a William L. ROBERTS. Performance characteristics of the Dimension RxL iron and total iron-binding capacity methods. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2003, **333**(1), 51-57 [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898103001694?via%3Dihub>

D'MELLO, Santosh R. a Mark C. KINDY. Overdosing on iron: Elevated iron and degenerative brain disorders. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 2020, **245**(16), 1444–1473 [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7553095/>

DUCAMP, Sarah a Mark D. FLEMING. The molecular genetics of sideroblastic anemia. *Blod* [online]. 2019, **133**(1), 59-69 [cit. 2022-06-01]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6318428/#__sec7title

Elecsys Ferritin, © 2014. [online]. Roche Diagnostics [cit. 2022-05-19].

ELSTROTT, Benjamin, Lubna KHAN, Sven OLSON, et al. The role of iron repletion in adult iron deficiency anemia and other diseases. *European Journal of Haematology* [online]. 2020, **104**(3), 153–161 [cit. 2022-03-13]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ejh.13345>

EHRMANN, Jiří, Petr SCHNEIDERKA a Jiří EHRMANN. *Alkohol a játra*. Praha: Grada, 2006, 168 s. ISBN 80-247-1048-X.

ERHARDT, Juergen G., John E. ESTES, Christine M. PFEIFFER, et al. Combined measurement of ferritin, soluble transferrin receptor, retinol binding protein, and C-reactive

protein by an inexpensive, sensitive, and simple sandwich enzyme-linked immunosorbent assay technique. *Journal of Nutrition* [online]. 2004, **134**(11), 3127-3132 [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15514286/>

FICIARÀ, Eleonora, Zunaira MUNIR, Silvia BOSCHI, et al. Alteration of Iron Concentration in Alzheimer's Disease as a Possible Diagnostic Biomarker Unveiling Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(9) [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8123284/>

GANONG, William F. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. Praha: Galén, 2005, 890 s. ISBN 80-7262-311-7.

GHIO, Andrew J. a Victor L. ROGGLI. Perls' Prussian blue stains of lung tissue, bronchoalveolar lavage, and sputum. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology, and Oncology* [online]. 2021, **40**(1), 1-15 [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8981511/>

GIRELLI, Domenico, Elizabeta NEMETH a Dorine W. SWINKELS. Hepcidin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* [online]. 2016, **127**(23), 2809–2813 [cit. 2022-03-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4956612/>

GUO, Lin-Na, Yan-Zong YANG a Yun-Zhi FENG. Serum and salivary ferritin and Hepcidin levels in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *BMC Oral Health* [online]. 2018, **18** [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5894201/>

GRAHAM, Marshall Don. The Coulter Principle: A history. *Cytometry Part A* [online]. 2022, **101**(1), 8-11 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34611994/>

HAMDI-ROZÉ, Houda, Zeineb BEN ALI, Martine ROPERT, et al. Variable expressivity of HJV related hemochromatosis: “Juvenile” hemochromatosis?. *Blood Cells, Molecules and Diseases* [online]. 2019, **74**, 30-33 [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1079979618302584?token=F9B39873FF76C481A35CFF184F34F06B06B7C760168C1FB765094748BA3E6A5612F10E5464B476CAD405C804AB657662&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220308190550>

HINNOUHO, Guy-Marino, Maxwell A. BARFFOUR, K Ryan WESSELLS, et al. Comparison of haemoglobin assessments by HemoCue and two automated haematology analysers in young

Laotian children. *Journal of Clinical Pathology* [online]. 2018, **71**(6), 532–538 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5969348/>

HORÁK, Jiří. *Hemochromatóza*. Praha: Grada, 2010, 232 s. ISBN 978-80-247-3287-9.

HUANG, En, Wei-Yi ONG, Mei-Lin GO, et al. Upregulation of iron regulatory proteins and divalent metal transporter-1 isoforms in the rat hippocampus after kainate induced neuronal injury. *Experimental Brain Research* [online]. 2006, **170**(3), 376–386 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16328268/>

HŮLEK, Petr, Petr URBÁNEK, Květa AIGLOVÁ, et al. *Hepatologie*. 3. vydání. Praha: Grada, 2018, 768 s. ISBN 978-80-271-0394-2.

IWAI, Kazuhiro. Regulation of cellular iron metabolism: Iron-dependent degradation of IRP by SCFFBXL5 ubiquitin ligase. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2019, **133**, 64-68 [cit. 2022-03-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.011>

JOSHI, Pranay K., Saawan C. PATEL, Devarashetty SHREYA, et al. Hereditary Hemochromatosis: A Cardiac Perspective. *Cureus Journal of Medical Science* [online]. 2021, **13**(11) [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://www.cureus.com/articles/78361-hereditary-hemochromatosis-a-cardiac-perspective>

KANE, Shawn F., Caroline ROBERTS a Ryan PAULUS. Hereditary Hemochromatosis: Rapid Evidence Review. *American Family Physician* [online]. 2021, **104**(3), 263-270 [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: <https://www.aafp.org/afp/2021/0900/p263.html>

KARAKOCHUK, Crystal D., Amanda M. HENDERSON, Kaitlyn L. SAMSON, et al. Comparison of a New Multiplex Immunoassay for Measurement of Ferritin, Soluble Transferrin Receptor, Retinol-Binding Protein, C-Reactive Protein and α^1 -Acid-glycoprotein Concentrations against a Widely-Used s-ELISA Method. *Diagnostics* [online]. 2018, **8**(1) [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29393894/>

KARAKOCHUK, Crystal D., Kyly C. WHITFIELD, Aviva I. RAPPAPORT, et al. Comparison of four immunoassays to measure serum ferritin concentrations and iron deficiency prevalence among non-pregnant Cambodian women and Congolese children. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2017, **55**(1), 65-72 [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27337742/>

KITTNAR, Otomar. Lékařská fyziologie. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada, 2020, 752 s. ISBN 9788024719634.

KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. Druhé, upravené a doplněné vydání. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

KONZ, T., M. MONTES-BAYÓN a S. VAULONT. Hepcidin quantification: methods and utility in diagnosis. *Metallomics* [online]. 2014, **6**(9) [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24874645/>

KOOLMAN, Jan a Klaus–Heinrich RÖHM. Barevný atlas biochemie. Překlad 4. vydání. Praha: Grada, 2012, 512 s. ISBN 978-80-247-2977-0.

KRAWIEC, Paulina a Elżbieta PAC-KOŻUCHOWSKA. Soluble transferrin receptor and soluble transferrin receptor/log ferritin index in diagnosis of iron deficiency anemia in pediatric inflammatory bowel disease. *Digestive and Liver Disease* [online]. 2019, **51**(3), 352-357 [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30538074/>

LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN. Biochemie pro studující medicíny. 2. vydání. Praha: Karolinum, 2009, 548 s. ISBN 978-802-4614- 144.

LEVENTI, Eleni, Aysegül AKSAN, Carl Thomas NEBE, et al. Zinc Protoporphyrin Is a Reliable Marker of Functional Iron Deficiency in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Diagnostics* [online]. 2021, **11**(2) [cit. 2022-06-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7926353/>

LEVI, Sonia, Stephen J. YEWDALL, Pauline M. HARRISON, et al. Evidence of H- and L-chains have co-operative roles in the iron-uptake mechanism of human ferritin. *The biochemical journal*. 1992, **288**(2), 591-596.

LI, Yikun, Xiali HUANG, Jingjing WANG, et al. Regulation of Iron Homeostasis and Related Diseases. *Mediators of Inflammation* [online]. 2020 [cit. 2022-06-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7212278/>

LUCHOWSKA-KOCOT, Dorota. Iron in medicine and treatment. *Journal of Elementology* [online]. 2014, **19**(3), 889–902 [cit. 2022-02-10]. Dostupné z: <http://jsite.uwm.edu.pl/articles/view/698/>

LUKÁŠ, Milan. Hemové železo v substituci sideropenie a sideropenní anémie. *Gastroenterologie a hepatologie* [online]. 2019, **73**(3), 271-272 [cit. 2022-06-02].

Dostupné z: https://globifer.cz/wp-content/uploads/2019/08/GH_3_19_lekovy_profil_reprint-1.pdf

LYNCH, Sean, Christine M. PFEIFFER, Michael GEORGIEFF, et al. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Iron Review. *The Journal of Nutrition* [online]. 2018, 2018, **148**(1), 1001–1067 [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6297556/>

MAHROUM, Naim, Amal ALGHORY, Zeynep KIYAK, et al. Ferritin – from iron, through inflammation and autoimmunity, to COVID-19. *Journal of autoimmunity* [online]. 2022, **126** [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8647584/#!po=54.3478>

MATOUŠ, Bohuslav. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 2010, 540 s. ISBN 978-80-7262-702-8.

MONTORO–HUGUET, Miguel A., Santos SANTOLARIA–PIEDRAFITA, Pablo CAÑAMARES–ORBIS, et al. Iron Deficiency in Celiac Disease: Prevalence, Health Impact, and Clinical Management. *Nutrients* [online]. 2021, **13**(10) [cit. 2022-04-15]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/10/3437>

MOUREK, Jindřich. *Fyziologie: Učebnice pro studenty zdravotnických oborů - 2., doplněné vydání. 2.* Praha: Grada, 2012, 224 s. ISBN 978-80-247-3918-2.

MWANGI, Martin N., Sumi MASKEY, Pauline ANDANGO, et al. Diagnostic utility of zinc protoporphyrin to detect iron deficiency in Kenyan pregnant women. *BMC Medicine* [online]. 2014, **12** [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4276103/>

NEZBEDA, Pavel. Vápník, hořčík, fosfor, železo a stopové prvky. In: *PO>STUDIUM* [online]. 2018a [cit. 2022-05-17]. ISSN 1803-8999. Dostupné z: <https://postudium.cz/course/view.php?id=447>

NEZBEDA, Pavel. Bílkoviny. In: *PO>STUDIUM* [online]. 2018b [cit. 2022-05-17]. ISSN 1803-8999. Dostupné z: <https://postudium.cz/course/view.php?id=407>

NIELSEN, Ole Haagen, Christoffer SOENDERGAARD, Malene Elbaek VIKNER, et al. Rational Management of Iron-Deficiency Anaemia in Inflammatory Bowel

- Disease. *Nutrients* [online]. 2018, **10**(1) [cit. 2022-06-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5793310/#!po=22.3404>
- NOVOTNÝ, Jan. Sideropenická anémie. *Medicína pro praxi: Solen* [online]. 2007, **4**(10), 390-394 [cit. 2021-04-03]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/10/02.pdf>
- Nutrition [online]. 2018, 2018, **148**(1), 1001–1067 [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6297556/>
- Oddělení klinické biochemie a hematologicko-transfúzní oddělení Chrudimské nemocnice [online]. [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: <https://chrudim.nempk.cz/>
- PECKA, Miroslav a Milan BLÁHA. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, 2010
- PENKA, Miroslav, Alena BULIKOVÁ, Miloslava MATÝŠKOVÁ, et al. *Neonkologická hematologie*. 2. doplněné a zcela přepracované vydání. Praha: Grada, 2009. ISBN 9788024722993.
- PETERSSON, Klara, Ola JAKOBSSON, Pelle OHLSSON, et al. Acoustofluidic hematocrit determination. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2018, **1000**, 199-204 [cit. 2022-05-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29289309/>
- PFEIFFER, Christine M. a Anne C. LOOKER. Laboratory methodologies for indicators of iron status: strengths, limitations, and analytical challenges. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2017, **106**(6), 1606-1614 [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701713/>
- PIPERNO, Alberto, Francesca BERTOLA a Angela BENTIVEGNA. Juvenile Hemochromatosis. *GeneReviews* [online]. 2020 [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1170/>
- RADFORD-SMITH, Daniel E., Elizabeth E. POWELL a Lawrie W. POWELL. Haemochromatosis: a clinical update for the practising physician. *Internal Medicine Journal* [online]. 2018, **48**(5), 509-516 [cit. 2022-03-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/imj.13784>
- RAJDL, Daniel, Milan DASTYCH, Richard PRŮŠA, et al. E-klinická biochemie [online]. 2014 [cit. 2021-12-08]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/111911175-E-klinicka-biochemie.html>

- RENASSIA, Cyril a Carole PEYSSONNAUX. New insights into the links between hypoxia and iron homeostasis. *Current Opinion in Hematology* [online]. 2019, **29**(3), 125-130 [cit. 2022-06-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6467554/>
- RHYNER, Matthew N. The Coulter Principle for Analysis of Subvisible Particles in Protein Formulations. *The AAPS Journal* [online]. 2011, **13**(1), 54-58 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1208/s12248-010-9245-6>
- ROH, Young-Man, Kangyoon KIM a Hyunwook KIM. Zinc protoporphyrin IX concentrations between normal adults and the lead-exposed workers measured by HPLC, spectrofluorometer, and hematofluorometer. *Industrial Health* [online]. 2000, **38**(4), 372-379 [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11061480/>
- RYAN, Benjamin J., Katherine L. FOUG, Rachel A. GIOSCIA-RYAN, et al. Exercise training decreases whole-body and tissue iron storage in adults with obesity. *Experimental Physiology* [online]. 2021, **106**(4), 820-827 [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/EP089272>
- SATO, Hiroe, Chinatsu TAKAI, Junichiro James KAZAMA, et al. Serum hepcidin level, iron metabolism and osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis. *Scientific Reports* [online]. 2020, **10** [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7303107/#!po=20.5882>
- SEDLÁČKOVÁ, Terezie a Jaroslav RACEK. Metabolismus železa a jeho regulace. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2009, **17**(1), 17-23.
- SKÁLOVÁ, Vendula. Krevní obraz a zánětlivé markery (I.) [online]. 2011 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: https://medicina.ronnie.cz/php/i_img.php?gal=8695_1
- SLÍVA, Jiří. Železo a jeho využití v organismu. *Remedia* [online]. 2013, listopad 2013, **23**(5), 354-357 [cit. 2021-10-17]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2013/5-2013/Zelezo-a-jeho-vyuziti-v-organismu/e-1pe-1xr-1yO.magarticle.aspx>
- STEINEROVÁ, Kateřina, Daniel LYSÁK a Pavel JINDRA. Nejběžnější typy anémií – diagnostika, klasifikace a léčba. *Medicína pro praxi*. 2018, **15**(2), 80-83.
- STAŇKA, Bedřich, Jaroslav MACEČEK a Petr KONVIČKA. Genetická hemochromatóza, jedna příčina, více nemocí. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2017, **19**(1), 39-41 [cit. 2022-03-09]. Dostupné z: <https://www.internimediceina.cz/pdfs/int/2017/01/10.pdf>

SUEGA, Ketut, Yenny KANDARINI a Jemi TUBUNG. Role of Soluble Transferrin Receptor and Transferrin Receptor-Ferritin Index to Detect Iron Deficiency Anemia in Regular Hemodialysis Patients. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* [online]. 2019, **7**(1), 97-102 [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6352476/>

ŠIMEK, Miroslav. Nové poznatky o metabolismu železa. *Vnitřní lékařství*. 2005, **51**(3), 345-353.

Tina-quant Ferritin Gen. 4, © 2019. [online]. Roche Diagnostics [cit. 2022-05-19].

VÁLKA, Jan a Jaroslav ČERMÁK. Diferenciální diagnostika anémie. *Interní medicína pro praxi*. 2018, **20**(5), 278-283.

WANG, Jian a Kostas PANTOPOULOS. Regulation of cellular iron metabolism. *Biochemical Journal* [online]. 2011, **434**(3), 365–381 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3048577/>

WANG, Peina, Yanmei CUI, Qianqian REN, et al. Mitochondrial ferritin attenuates cerebral ischaemia/reperfusion injury by inhibiting ferroptosis. *Cell Death and Disease* [online]. 2021, **12**(5) [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8099895/>

WANG, Ligang, Libo WANG, Zhibo DAI, et al. Lack of mitochondrial ferritin aggravated neurological deficits via enhancing oxidative stress in a traumatic brain injury murine model. *Bioscience reports* [online]. 2017, **37**(6) [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5672084/>

WEISS, Günter. Genetic mechanisms and modifying factors in hereditary hemochromatosis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* [online]. 2010, **7**(1), 50-58 [cit. 2022-04-01]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2009.201>

WILSON, Siobhan, Mary Kathryn BOHN a Khosrow ADELI. POCT: an inherently ideal tool in pediatric laboratory medicine. *Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2021, **32**(2), 145-157 [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8343051/>

WHITEHEAD, Ralph D., Zuguo MEI, Carine MAPANGO, et al. Methods and analyzers for hemoglobin measurement in clinical laboratories and field settings. *Annals of the New York*

- Academy of Sciences [online]. 2019, **1450**(1), 147–171 [cit. 2022-05-07]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6709845/?report=reader>
- YADAV, Kapil, Shashi KANT, Gomathi RAMASWAMY, et al. Validation of Point of Care Hemoglobin Estimation Among Pregnant Women Using Digital Hemoglobinometers (HemoCue 301 and HemoCue 201+) as Compared with Auto-Analyzer. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion* [online]. 2019, **36**(2), 342–348 [cit. 2022-04-23]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12288-019-01196-5>
- YAMANISHI, Hachiro, Shigeru IYAMA, Yoshihisa YAMAGUCHI, et al. Modification of fully automated total iron-binding capacity (TIBC) assay in serum and comparison with dimension TIBC method. *Clinical Chemistry* [online]. 2002, **48**(9), 1565-1570 [cit. 2022-06-03]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12194935/>
- YANATORI, Izumi a Fumio KISHI. DMT1 and iron transport. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2019, **133**, 55-63 [cit. 2022-05-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.020>
- YAO, Fengping, Xiaohong CUI, Ying ZHANG, et al. Iron regulatory protein 1 promotes ferroptosis by sustaining cellular iron homeostasis in melanoma. *Oncology Letters* [online]. 2021, **22**(3) [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34386079/>
- YAO, Zhengyang, Lin FU, Fengju JIA, et al. Rethinking IRPs/IRE system in neurodegenerative disorders: Looking beyond iron metabolism. *Ageing Research Reviews* [online]. 2022, **73** [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163721002580>
- ZHOU, Zhi Dong a Eng-King TAN. Iron regulatory protein (IRP)-iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration* [online]. 2017, **12**(1) [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29061112/>
- ZHU, Shiyu, Chang LIU, Chengchen ZHAO, et al. Increased Serum Soluble Transferrin Receptor Levels Were Associated With High Prevalence of Cardiovascular Diseases: Insights From the National Health and Nutrition Examination Survey 2017-2018. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* [online]. 2022, **10** [cit. 2022-06-05]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35493097/>

ZIMA, Tomáš, Antonín KAZDA, Richard PRŮŠA, et al. *Laboratorní diagnostika. 2.*, dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2007. ISBN 978-80-7262-372-3.

ŽOUREK, Michal, Silvie LACIGOVÁ, Michal KRČMA, et al. Přehled metabolismu železa s ohledem na klinickou praxi. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2007, **10**(2), 100-105 [cit. 2021-10-31]. Dostupné z: http://www.tigis.cz/images/stories/DMEV/2007/02/08_zourek_dmev_2_07_web_zabezp.pdf